

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1957

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Edmond LEMOINE

Élève de l'École du Service de Santé Militaire

Né le 15 Octobre 1932, à Vitré (Ille-et-Vilaine)

Présentée et soutenue publiquement le 2 juillet 1957

**ETUDE DU DEVENIR
DES PLAQUETTES SANGUINES TRANSFUSEES
APRES MARQUAGE
PAR DIVERS ISOTOPES RADIO-ACTIFS**

Président : M. FAUVERT, Professeur

PARIS
IMPRIMERIE R. FOULON
29, RUE DEPARCIEUX, 29
1957

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Nom du Candidat : LEMOINE

Prénom : EDMOND

Date de soutenance : 2 juillet 1957

Numéro d'ordre :

(Ces deux mentions seront complétées par le Service de la Bibliothèque)

LEMOINE (EDMOND) —
Etude du devenir des plaquettes sanguines transfusées après marquage par divers isotopes radio-actifs. — Paris, Imp. R. Foulon, 1957, in-8°, 99 p., 8 fig.

(Thèse Médec. (Etat), Paris, 1957, N°).

LEMOINE (EDMOND) —
Etude du devenir des plaquettes sanguines transfusées après marquage par divers isotopes radio-actifs. — Paris, Imp. R. Foulon, 1957, in-8°, 99 p., 8 fig.

(Thèse Médec. (Etat), Paris, 1957, N°).

LEMOINE (EDMOND) —
Etude du devenir des plaquettes sanguines transfusées après marquage par divers isotopes radio-actifs. — Paris, Imp. R. Foulon, 1957, in-8°, 99 p., 8 fig.

(Thèse Médec. (Etat), Paris, 1957, N°).

LEMOINE (EDMOND) —
Etude du devenir des plaquettes sanguines transfusées après marquage par divers isotopes radio-actifs. — Paris, Imp. R. Foulon, 1957, in-8°, 99 p., 8 fig.

(Thèse Médec. (Etat), Paris, 1957, N°).

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNEE 1957

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

Edmond LEMOINE

Élève de l'École du Service de Santé Militaire

Né le 15 Octobre 1932, à Vitré (Ille-et-Vilaine)

Présentée et soutenue publiquement le 2 juillet 1957

**ETUDE DU DEVENIR
DES PLAQUETTES SANGUINES TRANSFUSEES
APRES MARQUAGE
PAR DIVERS ISOTOPES RADIO-ACTIFS**

Président : M. FAUVERT, Professeur



IMPRIMERIE R. FOULON

29, RUE DEPARCIEUX, 29

1957



Digitized by the Internet Archive
in 2026

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Bénard (H.), Brocq (P.), Bulliard (H.), Cadenat (F.), Carnot (P.), Chabrol (Et.), Champy (C.), Chevassu (M.), Debré (R.), Delbet (P.), Donzelot (E.), Gastinel (P.), Guillaïn (G.), Halphen (E.), Harvier (P.), Laroche (G.), Laubry (Ch.), Lemaître (F.), Lévy-Solal (E.), Lhermitte (J.), Lian (C.), Loeper (M.), Marion (G.), Mathieu (P.), Mocquot (P.), Mondor (H.), Mulon (P.), Olivier (E.), Richet (Ch.), Sannié (Ch.), Sézary (A.), Tanon (L.), Velter (E.).

DOYEN **Léon BINET**
Membre de l'Institut

ASSESSEUR **Jean VERNE**

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	CORDIER (G.)
Anatomie pathologique	DELARUE (A.)
Bactériologie	FASQUELLE (R.)
Biochimie médicale	JAYLE (M.-F.)
Biologie appliquée à l'Education physique et aux Sports	CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale	FAUVERT (R.)
Cancérologie médicale et sociale	BERNARD (J.)
Clinique de cardiologie	MOUQUIN (M.)
Cliniques chirurgicales	Beaujon SICARD (A.)
	Cochin QUÉNU (J.)
	Hôtel-Dieu MÉNÉGAUX (G.)
	Salpêtrière MOULONGUET (P.)
Clinique chirurgicale réparatrice et orthopédique	MERLE D'AUBIGNÉ (R.)
Clinique de chirurgie cardio-vasculaire	DE GAUDART-D'ALLAINES (F.)
Clinique de chirurgie infantile et orthopédie	FÈVRE (M.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire	MONOD (R.)
Clinique gynécologique	FUNCK-BRENTANO (P.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	DEGOS (R.)
Clinique des maladies des enfants	CATHALA (J.)
Clinique des maladies infectieuses	MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale	DELAY (J.)
Clinique des maladies métaboliques	HAMBURGER (J.)
Clinique des maladies du sang	CHEVALLIER (P.)
Clinique des maladies du système nerveux	ALAJOUANINE (T.)
Cliniques médicales	Bichat JUSTIN-BESANÇON (L.)
	Broussais DE GENNES (L.)
	Cochin MOREAU (R.)
	Hôtel-Dieu BARIÉTY (M.)
Clinique médicale d'hydro-climatologie thérapeutique	DEBRAY (C.)
Clinique médicale propédeutique	PASTEUR VALLERY-RADOT (L.)
Clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition	BOULIN (R.)
Clinique de neuro-chirurgie	PETIT-DUTAILLIS (D.)
Cliniques obstétricales	Baudelocque LACOMME (M.)
	Port-Royal VARANGOT (J.)
Clinique d'obstétrique et de gynécologie	LANTUÉJOUL (P.)
Clinique ophtalmologique	RENARD (G.)
Clinique oto-rhino-laryngologique	AUBIN (A.)
Clinique de pneumo-ptisiologie	BERNARD (E.)
Clinique psychiatrique infantile	HEUYER (C.)
Clinique de puériculture	LELONG (M.)
Clinique rhumatologique médicale et sociale	COSTE (F.)
Clinique stomatologique	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale	SÉNÈQUE (J.)
Clinique thérapeutique médicale	LEMAIRE (A.)

Clinique urologique	FEY (B.)
Embryologie	GIROUD (A.)
Génétique médicale	LAMY (M.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	SOULIÉ (P.)
Histologie	VERNE (J.)
Hygiène et clinique de la première enfance	TURPIN (R.)
Hygiène et médecine préventive	JOANNON (C.)
Médecine légale	PIÉDELIVRE (R.)
Médecine du Travail	DESOILLE (H.)
Parasitologie et histoire naturelle médicale	GALLIARD (H.)
Pathologie chirurgicale	COUVELAIRE (R.)
Pathologie exotique	LAVIER (G.)
Pathologie expérimentale et comparée	LENÈGRE (J.)
Pathologie humorale et immunologie expérimentale (chaire à titre personnel)	MERKLEN (F.)
Pathologie médicale	DECOURT (J.)
Pathologie et thérapeutique générales	GARCIN (J.)
Pédiatrie sociale	MARIE (J.)
Pharmacologie et matière médicale	HAZARD (R.)
Physico-chimie médicale (chaire à titre personnel)	DOGNON (A.)
Physiologie	BINET (L.)
Physique médicale	STROHL (A.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale	PATEL (J.)
Thérapeutique	BROUET (G.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE MAITRES DE CONFERENCES-AGREGES ET AGREGES

MM.		MM.	
Anatomie . . .	{ DELMAS (A.) pr. s. ch.	Neurologie . . .	{ LHERMITTE (F.)
	{ CABROL (C.)		{ GRASSET (J.)
	{ DEBEYRE (J.)		{ LE LORIER (G.)
	{ OLIVIER (G.)		{ LEPAGE (F.)
Anatomie pathologique . . .	{ GAUTHIER-VILLARS	Obstétrique . . .	{ MERGER (R.)
	{ (Mlle P.) pr. s. ch.		{ MORIN (P.)
	{ BUSSET (F.)		{ RAVINA (J.)
	{ GOUGOU (Ch.)		{ ROBEY (M.)
Bactériologie . . .	{ NÉVOT (A.) pr. s. ch.	Ophtalmologie . . .	{ BRÉGEAT (P.)
	{ CHRISTOL (D.)		{ DESVIGNES (P.)
Biochimie médicale . . .	{ ETTORI (J.) pr. s. ch.	Orthopédie . . .	{ JUDET (R.)
	{ DESGREZ (P.)		
	{ POLONOVSKI (J.)	Oto-rhino- laryngologie . . .	{ AUBRY (M.)
	{ SCHAPIRA (R.)		{ MADURO (R.)
Biologie médicale . . .	{ BOURLIÈRE (F.)	Parasitologie . . .	{ BRUMPT (L.-C.)
			{ CHABAUD (A.)
Dermato- Syphiligraphie . . .	{ DUPERRAT (F.)	Pathologie chirurgicale . . .	{ ABOULKER (P.)
	{ TUCHMANN-DUPLESSIS (H.)		{ BARCAT (J.)
Histologie . . .	{ COUJARD (R.)		{ BAUMANN (J.)
	{ N...		{ CAUCHOIX (J.)
	{ N...		{ DUBOST (C.)
	{ N...		{ FAUREL (J.)
Hydrologie . . .	{ CORNET (A.)		{ FLABEAU (F.)
			{ GERMAIN (A.)
Hygiène . . .	{ BOYER (J.) pr. s. ch.		{ GOSSET (J.)
	{ DEPARIS (M.) pr. s. ch.		{ LAURENCE (G.)
Maladies infectieuses . . .	{ BASTIN (R.)		{ LORTAT-JACOB (J.)
			{ MATHEY (J.)
Médecine légale	{ DEROBERT (L.) pr. s. ch.		{ OLIVIER (Cl.)
	{ GAULTIER (M.)		{ POILLEUX (F.)
	{ HADENGUE (A.)		{ THOMERET (G.)
Médecine du travail . . .	{ ALBAHARY (C.)		{ VERNE (J.-M.)
		Pathologie expérimentale . . .	{ LOEPER (J.)
Neuro-chirurgie	DAVID (M.)		{ MAURICE (P.)

	MM.
Pathologie médicale	BOUDIN (G.)
	BOUVIER (J.-B.)
	BRICAIRE (H.)
	BRISSAUD (H.)
	CASTAIGNE (P.)
	CONTE (M.)
	DEROT (M.)
	DOMART (A.)
	LAMOTTE (M.)
	LAROCHE (C.-P.)
	MACREZ (Cl.)
	MILLIEZ (P.)
	PÉQUIGNOT (H.)
	PERRAULT (M.)
	RAMBERT (P.)
	ROYER (P.)
	THIEFFRY (St.)
Pédiatrie	TURIAF (J.)
	WOLFROMM (R.)
	N...
	JOSEPH (R.)
	MOZZICONACCI (P.)
	POLONOVSKY (Cl.)

	MM.
Pharmacologie . .	CHEYMOL (J.) <i>pr. s. ch.</i>
	LEVY (Mlle J.) <i>pr. s. ch.</i>
Physiologie . . .	BARJETON (D.) <i>pr. s. ch.</i>
	PARROT (J.) <i>pr. s. ch.</i>
	DEJOURS (P.)
Physique médicale	DJOURNO (A.) <i>pr. s. ch.</i>
	GOUGEROT (L.)
Pneumo- Phtisiologie . .	KREIS (B.)
Psychiatrie . . .	PICHOT (P.)
Psychiatrie infantile	MICHAUX (L.)
Rhumatologie . .	DELBARRE (F.)
Stomatologie . .	CERNÉA (P.)
	CHAPUT (Mme A.)
Thérapeutique .	CHASSAGNE (P.)
Urologie	KUSS (R.)

III. — PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

A TITRE PERMANENT

	MM.
Clinique chirurgicale . . .	AMELINE (A.)
	HUGUIER (J.)
	LÉGER (L.)
	PADOVANI (P.)
Clinique médicale	ROUX (M.)
	DREYFUS (Gilbert)
	HAGUENAU (J.) <i>pr. s. ch.</i>
	KOURILSKY (R.)
Clinique neurologique . .	MARCHAL (G.)
	DE SÈZE (S.)

	MM.
Clinique obstétricale . . .	MAYER (M.)
Clinique ophtalmologique	OFFRET (G.)
Clinique pédiatrique . . .	LAPLANE (R.)
Clinique psychiatrique .	BARUK (H.)

Secrétaire général de la Faculté M. MOREL (J.)
 Secrétaire Mlle CHAINTREUIL (G.)

Conservateur, chargé de la direction M. le Docteur HAHN (A.)
 Conservateur Mlle GOICHON (A.)
 Bibliothécaires } Milles DUMAITRE (P.), LAURENT (H.),
 LE NOIR (G.), QUIÉVREUX (E.)

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA FEMME

Je dédie cette thèse.

Qu'elle trouve, en ce modeste travail, un peu de mon amour.

A MES GRANDS-PARENTS

A MES PARENTS

Bien faible témoignage de toute mon affection, mon admiration, ma reconnaissance filiale.

A MA SŒUR

A MES BEAUX-PARENTS

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR R. FAUVERT

Titulaire de la Chaire de Biologie Médicale

*Qui nous a fait le grand honneur
d'accepter la présidence de notre jury
de thèse.*

Hommages très respectueux.

A NOS JUGES

A MONSIEUR LE MÉDECIN-GÉNÉRAL J. JULLIARD
Directeur du Centre de Réanimation et Transfusion de l'Armée

*Il nous fit le grand honneur de
nous accueillir dans son établissement.
Hommages très respectueux.*

A MONSIEUR LE MÉDECIN-LIEUTENANT-COLONEL B. MAUPIN

Spécialiste des Hôpitaux Militaires

Docteur ès Sciences

Il est l'âme même de ce travail. Quand nous lui avons demandé un sujet de thèse, il a bien voulu nous faire confiance et nous a chargé de développer des idées qui lui sont chères. Par la suite, il ne nous a ménagé ni son temps, ni ses conseils. Nous garderons de lui le souvenir d'heures où il nous fut donné de voir que l'esprit scientifique le plus rigoureux n'exclut pas une pensée toute de sensibilité.

Qu'il nous permette de lui dire ici combien nous lui resterons respectueusement attaché.

A MONSIEUR LE MÉDECIN-COMMANDANT J.-G. BERNARD

Professeur Agrégé du Val-de-Grâce

Médecin-chef du 2^e Service de Médecine de l'Hôpital Militaire
du Val-de-Grâce

*En témoignage de notre gratitude
pour ses conseils éclairés et la bien-
veillante sollicitude qu'il nous a tou-
jours montrée au cours de l'année
passée dans son service.*

Hommages très respectueux.

A MESSIEURS LES MÉDECINS-CAPITAINES

MESMIN — DION — TOMARI — LAABAN

*Nous garderons de leurs conseils
amicaux, au cours de notre séjour dans
le deuxième Service de Médecine du
Val-de-Grâce, un souvenir reconnais-
sant.*

A NOS MAITRES DES HOPITAUX CIVILS ET MILITAIRES
DE LYON ET DE PARIS

A TOUS NOS CAMARADES DE L'ECOLE
DU SERVICE DE SANTE MILITAIRE

A NOTRE CAMARADE DE PROMOTION
G. PERRAULT

*Unis pendant trois années sur un
même travail, nous lui adressons nos
marques de la plus sincère amitié.*

A MONSIEUR LE VÉTÉRINAIRE-COMMANDANT R. THEILLEUX

A MONSIEUR A. PALLOT
Adjoint technique

AU PERSONNEL LABORANTIN
DU CENTRE DE RÉANIMATION ET DE TRANSFUSION DE L'ARMÉE

A MESDAMES SIMON-VERMOT, LA ROSA, HEIDET
COURTOIS, BRIARD

*Leur aide a grandement facilité
notre tâche. Qu'ils trouvent ici un
témoignage de notre gratitude.*

A MADAME HUGUET
Secrétaire Médicale du 2^e Service de Médecine

A MESDAMES LES INFIRMIÈRES
du 2^e Service de Médecine

A MONSIEUR L'INFIRMIER-MAJOR
du 2^e Service de Médecine

*Nous garderons d'une année passée
en leur compagnie un sympathique et
durable souvenir.*

Introduction

Au début des applications de la transfusion sanguine, le sang était considéré comme un tout indivisible. Aussi, les effets particuliers à telle ou telle lignée étaient-ils méconnus au bénéfice de la seule amélioration clinique.

Depuis quelques années, le fractionnement du sang a été entrepris en même temps que l'on poursuivait la séparation du plasma, puis de ses différentes protéines. Les progrès techniques ont permis de séparer les éléments figurés du sang et de réaliser de véritables transfusions sélectives. A l'heure actuelle, la transfusion de globules rouges séparés, lavés ou non, est entrée dans la pratique courante.

Moins fréquemment pratiquées, les transfusions de globules blancs et les transfusions de plaquettes sont, néanmoins, techniquement possibles. Et on a pu alors étudier les effets sélectifs de tel ou tel mode de transfusion. En ce qui concerne les plaquettes sanguines, qui sont l'objet de notre travail, les auteurs ont vite remarqué que le destin de ces éléments, après leur transfusion, était loin d'être identique à celui des hématies transfusées. Si de telles constatations étaient faites à mesure que progressait la pratique transfusionnelle, il n'en demeurerait pas moins vrai que des précisions sur ce sujet étaient nécessaires.

Avant d'exposer nos recherches dans ce domaine, nous avons cru bon de regrouper sommairement, en quelques pages, les connaissances actuelles sur les plaquettes sanguines et leur rôle, et de faire le bilan des acquisitions sur leur destin dans l'organisme humain.

I. — LES PLAQUETTES SANGUINES ET LEUR ROLE

Longtemps dédaignées et considérées, il n'y a pas encore si longtemps, comme des artéfacts ou des précipités plasmatiques dont l'apparition dans le sang n'était qu'accidentelle, les pla-

quettes sanguines ont désormais acquis droit de cité. Aujourd'hui, ces mêmes plaquettes, plus de cent ans après leur découverte (DONNÉ, 1842), sont soumises, dans les laboratoires, aux investigations les plus variées. Et maintenant, personne ne met en doute leur autonomie en tant qu'éléments figurés du sang. Cette notion a encore été consolidée par la mise en évidence de leur personnalité antigénique. Avec ACKROYD, HARRINGTON, STEFANINI et DAUSSET, l'immuno-hématologie des plaquettes sanguines s'est érigée en discipline propre.

L'étude histo-chimique et l'étude de leur métabolisme sont des acquisitions récentes. Les plaquettes contiennent des protéines, des phospho-lipides, du glycogène, des polysaccharides.

Si la présence des ribonucléoprotéines suggérée par l'aspect des coupes ultrafines au microscope électronique n'est pas encore établie, aucune technique n'a permis de mettre en évidence une substance nucléaire (acide désoxyribonucléique) [1, 2]. Il est donc logique d'admettre que les plaquettes ne constituent pas des cellules entières, mais des fragments cytoplasmiques issus de la frange des mégacaryocytes de la moelle osseuse.

Leur métabolisme, étudié *in vitro*, est peu actif. Elles consomment de l'oxygène, dégagent du gaz carbonique, donc elles respirent [1, 3]. Leur quotient respiratoire est voisin de l'unité.

Leur équipement enzymatique a fait l'objet de nombreux travaux modernes : c'est ainsi qu'une catalase, une amylase, une tryptase, une phospho-mono-estérase, une choline-estérase, ont été mises en évidence. Plus récemment (1951), VALETTE, MAUPIN et HUIDOBRO ont décelé la présence d'une histaminase. Il nous faut surtout retenir le système estérasique : nous en verrons plus loin l'intérêt lors du marquage par certains radio-isotopes.

On considère, à juste titre, les plaquettes comme *les éléments figurés de l'hémostase*. A l'état physiologique, elles contribuent à renforcer l'étanchéité de l'endothélium vasculaire, qui, selon CHAMBERS, serait « sans ce ciment intercellulaire, aussi perméable qu'un panier en osier ». Cet endothélium vient-il à être lésé, elles participent efficacement à l'arrêt de l'hémorragie, en formant le thrombus blanc ou « clou plaquettaire » bien connu depuis HAYEM. Elles doivent ce rôle à deux propriétés particulières bien mises en lumière ces dernières années : l'adhésivité et l'agglutinabilité, consistant, pour la première, en la fixation des plaquettes sur une surface « mouillable » (attribuée pour beaucoup à l'émission de pseudopodes ou de spicules) et, pour

la seconde, en la formation d'amas plus ou moins importants. En outre, la vaso-constriction vasculaire qui précède la formation de l'embol blanc est prolongée par une substance vaso-constrictive libérée par les plaquettes : la sérotonine.

S'il n'est pas essentiel, leur rôle dans la coagulation est important. Si elles possèdent en propre un précurseur de la thromboplastine (facteur thromboplastique), elles apparaissent surtout, à la lumière des travaux modernes, comme des vecteurs de certains facteurs plasmatiques.

Leur intégrité paraît nécessaire à la rétraction du caillot, mais ce phénomène ne semble avoir aucune signification physiologique vraie, ni aucune répercussion clinique.

Constituant le thrombus blanc, intervenant dans la formation du caillot rouge, prolongeant la vaso-constriction vasculaire, les plaquettes jouent donc un rôle solidement établi dans l'hémostase. « Avec les plaquettes comme dénominateur commun, l'organisme est capable de coordonner tous les mécanismes de l'hémostase. » (QUICK, 1949.)

Ce rôle physiologique reçoit aujourd'hui une confirmation éclatante par la pathologie, qui montre qu'un purpura est souvent lié à un déficit plaquettaire, quantitatif (thrombopénies) ou qualitatif (thrombopathies). Il est encore illustré par la valeur de la transfusion de plaquettes dans la correction, au moins temporaire, des troubles de l'hémostase [5].

II. — VIE ET MORT DES PLAQUETTES

Longtemps discutée, l'hypothèse de WRIGHT (1908) qui fait dériver les plaquettes du cytoplasme des mégacaryocytes, a été récemment confirmée par les études histo-chimiques et par les belles observations cytologiques de BESSIS et collaborateurs [4].

Les plaquettes libérées dans la circulation générale y séjournent pendant un délai qui peut atteindre huit à neuf jours, dans des conditions normales. On s'accorde à définir ainsi la *durée de vie* des plaquettes dont l'estimation était demeurée, à vrai dire, très délicate jusqu'à l'introduction des techniques de marquage par les isotopes radio-actifs [6].

La fonction essentielle des plaquettes vivantes sera, pour une partie d'entre elles, de colmater l'endothélium vasculaire et d'en assurer la continuité et, pour une autre partie, d'assurer l'arrêt

spontané d'un saignement à l'occasion des microtraumatismes de la vie courante (leur utilisation dans l'arrêt d'une hémorragie plus importante ne jouant qu'à titre épisodique). Ces plaquettes ainsi utilisées sont retirées de la circulation et subissent une évolution que WRIGHT et MINOT désignent sous le nom de « métamorphose visqueuse » (fusion en masse des plaquettes et transformation en volumineux amas hyalins).

Une autre fonction, et par là un autre mode d'élimination de la plaquette sanguine, est représentée par leur fonction anti-xénique : si des plaquettes du sang circulant se trouvent au contact de corps étrangers à surface mouillable, tels que bactéries, agglutinats microbiens, amas cellulaires, surtout s'ils sont préparés à la phagocytose par opsonisation, elles ont tendance à les enrober (*). A partir de ce moment, elles forment elles-mêmes des corps étrangers qui seront éliminés par certains organes, comme nous le verrons par la suite.

Nous admettons comme un postulat que seules demeurent en circulation les plaquettes « viables ». Au bout de 8 à 10 jours, par le seul fait de leur vieillissement, elles auront perdu ce caractère de viabilité. Elles ne pourront demeurer dans la circulation à partir du moment où elles sont devenues mouillables par l'eau.

La question est donc de savoir maintenant ce que deviennent les plaquettes qui ont cessé d'être viables. Il est peu probable qu'elles subissent, dans des conditions normales, une destruction intravasculaire, aucune phagocytose n'ayant pu être mise en évidence dans le sang périphérique. Par contre, beaucoup plus probable est leur phagocytose par le système réticulo-endothélial et principalement par la rate. Des arguments, d'inégale valeur, ont été avancés :

- l'examen histologique comparatif de rates normales et pathologiques (encore qu'il soit difficile de conclure en raison de la labilité des structures plaquettaires);
- la richesse différente en plaquettes de l'artère et de la veine splénique (numérations pratiquées à l'occasion d'une intervention);
- la mise en évidence de sérotonine en quantité importante dans la rate.

(*) MAUPIN, « Les plaquettes sanguines de l'homme », p. 149.

Dans l'attente de nouvelles confirmations, nous pouvons considérer comme très probable l'intervention de la rate dans l'élimination des plaquettes vieilles, mais elle n'est certainement pas exclusive.

Nous venons d'envisager ainsi l'aspect physiologique du rôle et du destin des plaquettes. Un problème identique est posé en *pathologie* par les nombreux cas de thrombopénie qui se présentent aux cliniciens et dont l'origine peut se schématiser comme suit :

- 1° Absence de formation de plaquettes par la moelle osseuse ;
- 2° Destruction de plaquettes circulant par des agressions
— d'ordre physique (irradiations) ;
— d'ordre chimique (toxiques divers).

Précisons à ce sujet que, dans le cas de purpuras thrombopéniques par médicaments toxiques tels que le pyramidon, il est difficile de définir s'il s'agit d'une action directe du toxique ou d'un conflit antigène-anticorps.

3° Exagération de la fonction splénique dans diverses circonstances sur lesquelles l'accord est, d'ailleurs, loin d'être réalisé : EPPINGER (1913) décrit, sous le nom d'hypersplénisme, un syndrome associant une splénomégalie et un divorce entre la richesse en éléments figurés de la moelle et la pancytopenie périphérique. Nous ignorons encore le rôle précis joué par la rate au cours de ce syndrome. S'agit-il d'une action directe par lyse plaquettaire ? Ou d'une action indirecte par inhibition de la maturation des mégacaryocytes (théorie adiabatique) ? Ou même d'une production par la rate d'anticorps antiplaquettaires ? Dans l'état actuel de nos connaissances, nous ignorons encore si le fait primordial est un déséquilibre d'origine splénique.

III. — PROBLEME DU DEVENIR DES PLAQUETTES TRANSFUSEES

Le rôle important des plaquettes dans l'hémostase, que nous avons signalé plus haut, était connu lorsque la transfusion sanguine prit son essor. Il était permis d'escompter d'heureux résultats de l'emploi de sang frais, sinon du sang citraté, dans les syndromes hémorragiques liés à un déficit plaquettaire.

DUKE, le premier, en 1910, enregistrait les effets favorables de la transfusion directe de sang entier, chez des sujets thrombopéniques. KRASSO, en 1927, rapportait les mêmes résultats. Mais ces deux auteurs, et plus tard TOCANTINS et JONES (1938), avaient déjà noté qu'il n'y avait pas augmentation permanente du nombre des plaquettes dans le sang circulant après transfusion de sang compatible. LAWRENCE et VALENTINE (1948) notaient aussi cet échec de la transfusion pratiquée chez l'homme dans un but thérapeutique, ainsi que l'échec relatif observé dans l'expérience de circulation croisée entre un chat thrombopénique et un chat normal.

BENHAMOU et PUGLIÈSE (1945) apportent les résultats de transfusions de plaquettes séparées qui, en quantité encore peu importante (7 milliards de plaquettes sous un volume de 5 ml) représentent néanmoins le premier essai clinique.

Mais c'est seulement en 1950 que sont publiées les premières observations d'une transfusion plaquettaire indiscutablement efficace, grâce aux travaux des auteurs anglo-saxons (HIRSCH, DAMESHEK).

Que s'est-il passé dans l'intervalle? La réponse est simple : en quelques années, nos connaissances des conditions de conservation des plaquettes se sont considérablement étendues :

- suppression de la mouillabilité des surfaces par traitement aux silicones;
- choix d'un anticoagulant favorable : à ce titre, le séquestre (sel disodique de l'acide éthylène-diamine-tétraacétique) a largement détrôné le classique citrate de soude;
- précautions concernant la température, le pH, la vitesse de centrifugation, etc..., lors de la récolte et de la préparation de la suspension plaquettaire.

Tous ces progrès techniques, qui ont permis l'efficacité d'une thérapeutique longtemps inopérante, ont été exposés dans les publications de TULLIS, STEFANINI, HIRSCH et collaborateurs, MAUPIN, etc...

Si importants qu'aient été les progrès d'ordre technique, il reste cependant à expliquer de nombreux échecs des transfusions de plaquettes, qui ont vite tempéré l'optimisme né des premiers résultats favorables. Certains échecs tiennent au défaut de viabilité des éléments transfusés malgré les précautions prises; d'autres trouvent leur origine chez le receveur lui-même qui peut être porteur d'anticorps antiplaquettaires immédiatement actifs vis-à-vis des plaquettes transfusées.

De toute façon, surtout parce qu'il subsiste de nombreuses inconnues, il était intéressant de connaître le devenir exact des plaquettes transfusées. Non seulement pour en préciser le rôle thérapeutique par action de substitution, et par là pour en mieux poser les indications cliniques, mais aussi pour prévenir des accidents de thrombose qui résulteraient théoriquement d'un apport excessif de facteurs de coagulation et d'hémostase.

* *

Dans un premier chapitre, nous examinerons les différentes techniques qui ont été proposées pour le marquage des plaquettes par les isotopes radio-actifs et nous détaillerons celles que nous avons mises au point au Centre de Réanimation et Transfusion de l'Armée, sous la direction du Médecin-Lieutenant-Colonel MAUPIN.

Un deuxième chapitre traitera des résultats obtenus après transfusion de plaquettes marquées, tant chez l'homme que chez l'animal.

Nous envisagerons, dans un dernier chapitre, les conséquences physiologiques et cliniques de l'ensemble de ces expériences.

CHAPITRE I

Techniques de marquage des plaquettes sanguines par les isotopes radio-actifs

Le marquage des plaquettes par un isotope radio-actif obéit à un but précis : fixer sur ces éléments figurés, en les altérant le moins possible, un corps radio-actif permettant de suivre, à l'aide de moyens de détection appropriés, leur distribution dans l'organisme et l'évolution de cette distribution avec le temps.

I. — REVUE DES METHODES EMPLOYEES

D'emblée, deux méthodes s'affrontent : le marquage *in vivo* et le marquage *in vitro*. Le marquage *in vivo*, plus séduisant, est difficile à réaliser. Le traceur introduit dans l'organisme doit présenter une affinité sélective vis-à-vis des plaquettes, en même temps qu'une absence totale de toxicité. Son choix suppose donc une connaissance précise du métabolisme plaquettaire. C'est ainsi que LEEKSMA, utilisant judicieusement l'affinité du D F P (di-iso-propyl-fluoro-phosphonate) pour les estérases, marqua *in vivo* des plaquettes humaines par injection d'une faible quantité de D F P, radio-actif sur l'atome phosphore [7].

En fait, le marquage *in vitro* est plus aisé, et notre but étant moins de déterminer la survie numérique des plaquettes transfusées que leur répartition dans les organes, nous avons

délibérément adopté ce mode de marquage. C'est ainsi qu'un radio-élément comme le radio-chrome⁵¹, émetteur de radiations X et gamma, permet de suivre, dans le temps, à l'aide de scintillateurs de surface, leur localisation dans tel ou tel organe.

1) Jusqu'à ce jour, 6 radio-éléments ont été employés pour le marquage *in vitro*. Si c'est à ERF, TUTTLE et LAWRENCE (1941) [8] que revient le mérite d'avoir signalé que le phosphore radio-actif (P^{32}) s'incorporait aux plaquettes, c'est JULLIARD, MAUPIN et LOVERDO qui, en 1952, réalisent, de propos délibéré, le premier marquage par cet isotope (sous forme de phosphate disodique). Après une incubation de 60 à 120 mn à $+ 37^{\circ} \text{C}$, ils remarquent que les plaquettes fixent entre 6 et 12 % de l'activité totale de la solution marquante : mais cette fixation est labile, le P^{32} ne pénétrant pas dans le compartiment organique des plaquettes et l'extrapolation dans le temps n'est pas valable [9a, 9b].

MUELLER, en 1952 et 1953, pratiquant des expériences semblables, obtenait une meilleure incorporation en prolongeant le temps d'incubation jusqu'à 14 heures [10a et b].

A la même époque, ODELL pratique un marquage par le radio-carbone (C^{14}), mais cette fixation paraît labile, *in vitro*, alors que faite *in vivo* elle paraît plus stable [11]. Il emploie également le radio-soufre (S^{35}) dans le marquage *in vivo* [12a]. Ce même auteur tente le marquage *in vivo* des plaquettes par le radio-calcium (Ca^{45}). Alors que le S^{35} et le C^{14} s'accumulent dans les plaquettes, et le S^{35} dans les mégacaryocytes, il ne semble pas, d'après les conclusions de cet auteur, que le Ca^{45} soit solidement fixé sur les plaquettes. Il admet, entre ces éléments et le plasma, un libre échange du calcium, expliquant peut-être certains mécanismes de la coagulation [12b].

L'iode¹³¹ se fixe sur les plaquettes du lapin, mais cet essai ne peut être retenu, car il s'accompagne d'altération importante de ces éléments figurés (MORGAN, KEATING, REISNER, 1954) [13].

Plus récemment utilisé dans ce domaine, le chrome⁵¹ a été employé d'abord sous forme de chlorure pour le marquage *in vitro* des plaquettes du rat irradié. Cette fixation manquait de stabilité (ROBERTSON et collaborateurs, 1954) [14].

MORGAN, KEATING et REISNER obtiennent un marquage plus efficace par le chromate⁵¹ en soumettant les plaquettes de lapin à une incubation de 90 mn à la température du laboratoire, ou de 30 mn à 37°C . Nous verrons par la suite que nous rejoignons

les conclusions de ces auteurs, obtenant une efficacité du même ordre de grandeur par une incubation beaucoup plus brève. Il est à noter que le chlorure de chrome, ajouté au sang entier, se fixe de préférence sur les protéines du plasma, tandis que le chromate de sodium, ajouté au sang entier, se fixe sur les globules rouges dans une proportion de 80 à 95 % [15].

De tous ces travaux antérieurs à 1955, il nous faut retenir que le S^{35} et le C^{11} conviennent au marquage *in vivo*, méthode plus sûre, mais délicate à réaliser — que l' I^{131} n'est pas utilisable dans le marquage des plaquettes — et que le Cr^{51} n'est employé que dans le seul marquage *in vitro*.

2) Au cours de notre travail, nous avons appris que DAME-SHEK et ses élèves ont réalisé chez l'homme un marquage *in vivo* par le P^{32} , établissant la durée de survie des plaquettes après transfusion [16, 17, 18].

De même, ADELSON et RHEINGOLD ont mis au point une méthode de marquage *in vivo* des plaquettes par le P^{32} , réduisant au minimum les traumatismes infligés à ces éléments. Dans ces conditions, la survie des plaquettes transfusées est de 7 jours chez l'homme; une survie identique est trouvée chez le chien qui reçoit des plaquettes homologues [19].

Le chrome⁵¹ est repris par REISNER et collaborateurs, qui l'appliquent cette fois au marquage des plaquettes humaines, *in vitro*. Ils évaluent la survie à 4 jours chez le rat, 5 à 8 chez l'homme normal, 8 à 11 jours chez l'homme ayant subi antérieurement une splénectomie [20].

AAS et GARDNER ont également recours au marquage *in vitro* par le Cr^{51} . Ces auteurs estiment que la survie des plaquettes transfusées serait de 9 à 11 jours [21].

Utilisant leur méthode de marquage *in vivo* par le D.F.P.³², LEEKSMA et COHEN publient leurs conclusions. Ils admettent une survie de 8 à 9 jours chez l'homme normal [7].

Parmi les nombreux travaux rapportés aux VI^{es} Congrès Internationaux d'Hématologie et de Transfusion Sanguine (*), ODELL présentait une revue des techniques utilisées et des résultats obtenus par les nombreux auteurs travaillant sur ce problème. A la lumière de ces récentes publications, il admet une survie des plaquettes transfusées de 5 jours chez le rat, de 8 à

(*) Boston, septembre 1956.

9 jours chez l'homme [22]. Ses travaux personnels, entrepris avec des plaquettes marquées par le C^{14} *in vitro* et *in vivo* et le S^{35} *in vivo*, lui donnent une survie de 5 à 6 jours des plaquettes transfusées au rat. Il note également que les plaquettes marquées *in vitro* demeurent plus longtemps en circulation [22a et 22b].

En janvier 1957, MAUPIN publie une revue des différentes méthodes de marquage des plaquettes sanguines par les isotopes radio-actifs et fait ainsi le point des acquisitions actuelles [6] concernant ce sujet.

Même si on ne considère que les progrès techniques réalisés, le caractère récent de ces publications nous montre la grande actualité du problème.

II. — TECHNIQUES UTILISEES DANS NOTRE TRAVAIL

Notre travail a été réalisé en partie au Centre de Transfusion et de Réanimation de l'Armée (Directeur : Médecin-Colonel JULIARD), en partie au Laboratoire Central de l'Hôpital Beaujon (Service du Professeur FAUVERT).

Ce n'est que récemment que nous avons pu procéder directement aux mesures des radio-activités au Centre de Transfusion de l'Armée; mais les radio-isotopes nous étaient toujours fournis par le Laboratoire Central de l'Hôpital Beaujon.

A) TECHNIQUES DE MARQUAGE PAR LE RADIO-PHOSPHORE (P^{32})

Dans l'ordre chronologique, cette technique a été la première utilisée pour le marquage *in vitro* des plaquettes, dans divers laboratoires. Nous décrirons sommairement cette technique, celle-ci étant désormais abandonnée au profit du marquage par le radio-chromate et l'or colloïdal radio-actif. La technique de préparation de la suspension plaquettaire est identique à celle développée pour le Cr^{51} . Rappelons néanmoins que les plaquettes étaient séparées à partir d'un sang recueilli sur une solution de citrate à 2,5 % (100 ml de solution pour 400 ml de sang).

Le marquage était réalisé par l'addition, à 25 ml environ de crème plaquettaire, de 3 mc de P^{32} , sous forme de phosphate disodique, suivie d'une incubation de 1 à 2 heures au bain-marie à 37°C, avec agitation toutes les 10 mn [9, 24a, 24b].

B) TECHNIQUES DE MARQUAGE PAR LE RADIOCHROME (Cr^{51})

1. SOLUTION MARQUANTE UTILISÉE :

Il s'agit du radio-chromate de sodium provenant de la pile atomique de Harwell. L'activité spécifique excellente est de l'ordre de 1 millicurie par 35 γ de Cr élément.

La solution, de teinte jaune citron, est stérilisée dans le cas d'expériences sur l'homme.

2. PRÉPARATION DE LA SUSPENSION PLAQUETTAIRE (méthode de MAUPIN et CHARY, 1952) [23, 4].

a) Douze donneurs, pris au hasard, nous permettent d'obtenir au jour choisi, entre 9 heures et 10 heures, 12 flacons contenant 400 ml de sang recueillis sur 100 ml d'une solution de séquestre à 1 % dans 0,7 % de Cl Na.

Une centrifugation à 2.900 tours/minute pendant 30 mn ($2.500 \times G$) est suivie d'un prélèvement aseptique du plasma surnageant.

b) Dans un deuxième temps (enrichissement), nous réunissons par aspiration à l'aide d'une pipette coudée les éléments figurés les plus légers : plaquettes, globules blancs, et un nombre encore important de globules rouges, dans un flacon siliconé de 500 ml. Cette préparation, que nous désignerons sous le nom de *suspension globulaire enrichie*, contient les culots leucocyto-plaquettaires de 12 flacons de sang total (environ 5 litres de sang); elle a l'aspect du sang. Elle renferme, par mm^3 , un million et demi de plaquettes, 50.000 globules blancs, 6 millions de globules rouges.

c) Dans un dernier temps, celui de la séparation proprement dite, nous effectuons une nouvelle centrifugation exactement calculée (13 mn à 2.400 tours-minute, soit $1.800 \times G$) pour répartir le contenu du flacon en couches suffisamment distinctes. La séparation est alors obtenue par le dispositif imaginé par MAUPIN et CHARY : une pipette siliconée à double courant est adaptée au col du flacon, ce qui permet d'introduire au fond du récipient une solution de glucose, de densité $d = 1,2$. Cette solution dense, montant à la manière d'un piston liquide, chasse successivement vers le col de cygne de la pipette, dans l'ordre des densités croissantes, les quatre couches : plasma, plaquettes, globules blancs, globules rouges.

L'arrivée de la solution dense glucosée est précédée par une purge d'air de toutes les tubulures; un robinet à trois voies permet de mettre la pipette en relation soit avec une trompe à vide pour l'amorçage du siphon, soit avec le ballon contenant le glucose pour l'évacuation progressive des éléments figurés.

On recueille ainsi 20 à 30 ml d'une crème plaquettaire de teinte jaune chamois, riche de 30 à 40 millions de plaquettes et seulement de quelques milliers de leucocytes et hématies par mm³. On peut réduire cette contamination en arrêtant le prélèvement assez tôt, avant l'arrivée de la couche supérieure des leucocytes, riche en lymphocytes. Observées à ce stade, les plaquettes sont le plus souvent isolées avec prédominance des formes dendritiques. Cet aspect s'oppose à l'aspect arrondi des plaquettes lavées.

La crème plaquettaire est reçue dans un tube à centrifuger siliconé de 100 ml, contenant la solution marquante de radio-chromate. Le tube est protégé de toute contamination par un couvercle vissé. Ce tube de 100 ml contenant crème plaquettaire et solution marquante est pesé contre une tare.

3. MARQUAGE PROPREMENT DIT :

a) *Le temps de marquage optimum* a été déterminé par des expériences préliminaires. Dans nos conditions d'expérience, cet optimum se situe entre 5 et 10 mn à 37°C. Ce délai est nettement inférieur à celui qu'indiquent MORGAN, REISNER et collaborateurs [15], qui ont également marqué par le radio-chrome les plaquettes de l'homme et du lapin.

Nous devons noter, à ce propos, que le marquage des hématies par le radio-chrome requiert un délai de deux heures à la température du laboratoire, ou de 30 mn à 37°C. Parmi les chercheurs se consacrant à ce sujet, certains auteurs américains, tels que GIBSON [32], ont préconisé l'addition, à la fin du marquage des hématies par le radio-chromate, d'une solution d'acide ascorbique à 1 %. Cette solution ajoutée, à la dose de 1 ml, à une quantité de sang de l'ordre de 50 ml, entraîne en effet une réduction du chromate : le chrome réduit, sous forme de cation, cesse de marquer les hématies; on évite ainsi un marquage secondaire des hématies du receveur. Ce procédé, appliqué au marquage des plaquettes ne nous a pas paru avantageux, d'autant que le chrome radio-actif, à l'état de cation, continuerait à marquer les plaquettes, comme l'ont montré les travaux de ROBERTSON, MILNE et COHN [14].

b) Pratiquement, on ajoute à la crème plaquettaire, dont le volume est connu, une solution de radio-chromate dont l'activité est de 1 à 2 mc sous un volume de quelques ml. Le tube de 100 ml, revêtu d'une virole, est agité avec précaution avant d'être porté au bain-marie, dans lequel il est maintenu par une pince à ressort. Si le délai de marquage dépassait 5 mn, une nouvelle agitation serait pratiquée.

c) Sitôt le délai de marquage écoulé, le tube est retiré du bain-marie et débouché. On y ajoute, en agitant constamment, un volume de solution de séquestrène suffisant pour remplir le tube.

d) Le tube est alors tourné pendant 10 mn à 3.400 tours/minute dans une centrifugeuse de laboratoire, non refroidie.

Après cette centrifugation, le liquide surnageant est prélevé par aspiration dans un flacon de 500 ml, soigneusement bouché et mis de côté pour mesure de sa radio-activité (*1^{er} surnageant*). La crème plaquettaire est transvasée dans un tube plus petit, siliconé, de 35 ml. Le siliconage des tubes permet un transvasement facile et évite des pertes importantes qui pourraient avoir lieu par adhérence aux parois. On abandonne délibérément dans le fond du premier tube de 100 ml un culot plaquettaire contenant la majorité des hématies et des leucocytes souillant la préparation. Ce culot est également conservé, recueilli dans un flacon pour mesure de sa radio-activité (*1^{er} culot*).

On complète le tube de 35 ml avec une solution de séquestrène; on opère une deuxième centrifugation : habituellement de 8 mn à 3.400 tours/minute. On prélève de la même manière un second surnageant et un deuxième culot.

On transporte la crème plaquettaire dans un troisième tube; on le soumet à une troisième centrifugation habituellement limitée à 6 mn. On recueille à nouveau un troisième surnageant. Le dernier culot obtenu, théoriquement pur, sera utilisé en vue d'injection.

On aura ainsi prélevé trois surnageants et conservé trois culots. Cette succession de lavages réalise à la fois l'élimination de la solution marquante non fixée sur les plaquettes, et l'élimination des éléments blancs et rouges indésirables dans notre expérience. Dans certains cas, deux lavages s'avèrent suffisants : on se basera sur la quantité de plaquettes disponibles au départ et sur l'aspect de la préparation, qui doit être totalement dépourvue d'amas visibles d'hématies ou de leucocytes.

e) Après la dernière centrifugation, on recueille la crème plaquettaire dans un récipient taré (habituellement un bécher ou une simple ventouse officinale) siliconé, dont la large ouverture facilitera le remplissage des seringues. La crème plaquettaire marquée est additionnée d'une solution isotonique de Cl Na jusqu'à l'obtention du volume désiré, dicté par le nombre des animaux à injecter. Ce mode de dilution est intentionnel, car l'injection intraveineuse rapide du séquestrène à 1 % sous un volume de l'ordre de 10 ml provoque chez le lapin des accidents tétaniques mortels.

Le calcul du volume de cette suspension plaquettaire diluée est fait par pesée : cette suspension présentant une densité voisine de 1,01.

On agite soigneusement à l'aide d'une baguette de verre siliconée, pour obtenir une homogénéisation aussi parfaite que possible de la solution.

Dès ce moment, on prélève :

1) 1 ml, exactement, pour mesure d'activité; ce volume sera porté dans un flacon contenant 99 ml de séquestrène, réalisant ainsi une dilution à 1/100, en se garantissant au maximum de l'agglutination spontanée des plaquettes.

2) 1 ml pour contrôle hématologique.

La préparation ainsi effectuée est prête à être injectée à l'animal.

C) TECHNIQUE DE MARQUAGE PAR L'OR COLLOIDAL RADIO-ACTIF

1. SOLUTION MARQUANTE UTILISÉE.

Il s'agit de l'or colloïdal radio-actif Au^{198} fourni par le Commissariat à l'Energie Atomique. Sa période est de 3,69 jours. Les caractéristiques du colloïde sont les suivantes :

— Or :	3,5 mg/cm ³
— Gélatine :	30 mg/cm ³
— Glucose :	1 mg/cm ³
— Cl Na :	5 mg/cm ³

La taille moyenne des particules est de 300 angströms.

L'activité est de 5 à 15 mc par cm³.

Ce radio-isotope émet des rayonnements β et γ d'intensités diverses.

La solution isotonique, stérilisée, est livrée en flacons sertis.

2. MARQUAGE PROPREMENT DIT.

a) Des expériences préliminaires, que nous détaillerons dans le chapitre « Contrôle du marquage » ont permis de préciser le délai optimum d'incubation; il est de 60 mn à la température de + 37°C.

b) En pratique, la crème plaquettaire provient, comme dans le cas précédent, de sangs humains récoltés sur solution de séquestre. Elle est reçue directement sur la dose de solution marquante dans un pot de 100 ml siliconé. L'activité de la solution marquante est variable d'une expérience à l'autre, de 40 microcuries à 1 millicurie.

Le pot est porté au bain-marie à 37°C pendant 60 mn. Une agitation douce est pratiquée toutes les 7 mn.

Après une première centrifugation 10 mn à 3.000 tours/minute, le surnageant est conservé (1^{er} surnageant). Le culot est transvasé dans un deuxième tube de 35 ml siliconé. On abandonne ainsi un culot plaquettaire contenant leucocytes et hématies (1^{er} culot) qui sera par la suite soumis à une mesure d'activité. Une deuxième centrifugation de 8 mn à 3.400 tours/minute isole de la même manière un 2^e surnageant et un 2^e culot soigneusement mis de côté pour mesures de la radio-activité. Une troisième centrifugation dans un tube de moindre capacité, si le volume de la suspension n'excède pas 5 ml, isole un dernier surnageant (3^e surnageant) et le culot, qui sera ensuite dilué, avant d'être injecté. Cette dilution sera faite, comme dans le cas des plaquettes marquées par le radio-chromate, avec un soluté isotonique de Cl Na.

On appréciera le poids de la suspension ainsi préparée. On prélèvera 1 ml pour contrôle de numération, et 1 ml pour contrôle de radio-activité.

III. — CONDUITE DES EXPERIENCES

A) INJECTION

La quantité de suspension plaquettaire diluée à injecter est ajustée avec autant de précision que possible au poids de l'animal, recherchant une dose approximative de 450 coups/minute par gramme d'animal. C'est ainsi qu'on injectera une dose de 8 ml correspondant à 140.000 c/m par ml à un lapin de 2.400 g.

L'étanchéité des seringues est toujours vérifiée avant l'injection. Ces seringues, qui sont siliconées, sont pesées contre une tare, avec leurs aiguilles, avant et après l'injection.

Celle-ci est pratiquée dans la veine marginale de l'oreille chez le lapin, dans la veine fémorale chez le chien.

Les pertes éventuelles ne dépassant jamais quelques gouttes, par l'aiguille, l'embout de seringue, voire le piston, sont notées et retenues le plus exactement possible.

Dans quelques expériences, nous avons rincé les seringues avec leurs aiguilles et mesuré l'activité du liquide de rinçage. L'activité retrouvée correspond aux prévisions du calcul qui tient compte de « l'espace nuisible » de la seringue : en effet, il existe toujours une différence de poids entre la seringue avant son remplissage et la même seringue vide après l'injection.

Les pertes de radio-activité sur les parois de la seringue sont négligeables.

B) SACRIFICE ET AUTOPSIE DES ANIMAUX

Le sacrifice a lieu après un délai choisi ; un délai de 20 mn a été le plus souvent adopté.

Le lapin était tué par un violent coup sur la nuque, le chien par injection endo-veineuse d'une solution concentrée de sulfate de soude ou de magnésie.

Dans quelques cas, une épistaxis importante, après sacrifice du lapin, nous obligeait à prélever directement le sang provenant de cette hémorragie, dans la crainte de trouver une cavité cardiaque exsangue ou remplie de caillots.

C) PRELEVEMENT DES ORGANES

L'animal sacrifié est immédiatement autopsié :

1) Le sang est prélevé :

- au cœur, à l'aide d'une pipette fine ;
- dans la veine cave inférieure, à l'aide d'une seringue rincée à l'héparine.

Pour chaque échantillon, on emplit deux tubes de 3 ml contenant 2 gouttes d'héparine et préalablement tarés à la balance de précision.

2) Les poumons prélevés séparément sont placés chacun dans une coupelle d'aluminium tarée au trébuchet.

3) Les deux reins sont déposés également dans une seule coupelle en aluminium.

4) Le foie, organe le plus volumineux, est mis dans un couvercle de boîte de Pétri taré au préalable sur une balance de Roberval.

5) La rate, séparée en deux fragments, ainsi que la moelle osseuse d'un fémur, sont directement déposées dans des tubes de verre identiques à ceux utilisés pour le prélèvement de sang.

Le foie, les reins, le poumon droit et le poumon gauche sont aussitôt pesés. Connaissant le poids contre tare du récipient qui les contient, on en déduit le poids de chaque organe. Sur chacun d'eux, on prélève, soit aux ciseaux fins, soit à la lame de rasoir, deux échantillons de quelques décigrammes, dans la partie la plus représentative de l'organe. Ces échantillons seront placés chacun dans un tube de verre de 4 ml, identiques à ceux précédemment utilisés pour le sang, la rate et la moelle osseuse. Nous aurons ainsi 14 tubes, qui seront immédiatement pesés à la balance de précision. Par soustraction du poids du tube, nous calculerons aisément le poids de l'échantillon. Ces tubes seront aussitôt obturés par un bouchon de caoutchouc pour éviter toute perte par évaporation.

Une particularité doit être notée : les échantillons d'organes et les échantillons de sang des animaux ayant reçu une suspension plaquettaire marquée par le radio-phosphore P^{32} sont recueillis non dans des tubes, mais dans des coupelles de verre Pyrex, de géométrie définie, qui seront pesés avec une égale précision.

Pour chaque animal ainsi injecté et sacrifié, nous aurons établi deux feuilles sur lesquelles seront consignés tous les détails se rapportant à l'expérience. Sur la première feuille, outre un numéro de référence pour l'animal, nous noterons :

- le poids de l'animal ;
- la quantité de suspension plaquettaire injectée ;
- l'heure de l'injection ;
- l'heure du sacrifice prévu ;
- le poids des deux reins, du foie, du poumon droit, du poumon gauche ;

- tous les détails cliniques apparus après l'injection, avant le sacrifice, tels que choc, épistaxis, etc...;
- l'aspect macroscopique de certains organes, qui pourrait, par la suite, rendre compte des résultats aberrants.

Sur la deuxième feuille, nous noterons le poids des 14 échantillons de tissu prélevés. C'est sur cette feuille que nous consignerons également les activités trouvées par chaque échantillon et que seront notées les valeurs des radio-activités après la mesure, ainsi que les calculs (voir plus loin).

D) PREPARATION DES ECHANTILLONS D'ORGANES

Il est évident qu'une mesure de radio-activité ne peut être faite sur l'organe placé dans le tube comme nous l'y avons laissé. Sa position dans le tube, sa forme géométrique, sa densité, sont des causes d'erreur trop importantes. Nous devons faire de cet organe une présentation homogène pour la mesure.

1) Pour les organes d'animaux injectés par une suspension plaquettaire marquée au radio-phosphore P^{32} :

Les échantillons, prélevés dans des coupelles, sont portés une nuit, pour assurer leur dessiccation, dans un four à 110°C , après addition d'une solution à 10 % d'acétate de magnésium. Ils sont ensuite calcinés dans un four à mouffle, en respectant des paliers de température : la température de 500°C est atteinte et maintenue durant une heure.

Les échantillons de sang (ainsi que ceux de plaquettes marquées diluées au $1/100^{\circ}$) sont desséchés progressivement à l'étuve à 37° . Dans tous les cas, les coupelles contenant les produits desséchés ou calcinés sont pesées peu avant les mesures d'activité pour permettre les corrections d'adsorption.

2) Pour les organes d'animaux injectés par une suspension plaquettaire marquée par le radio-chrome (Cr^{51}) ou par l'or radio-actif (Au^{198}) :

Les échantillons d'origine sont digérés par l'acide nitrique, d'abord à froid, puis à chaud, sur un bain-marie à 50°C environ. Habituellement, 1 ml d'acide nitrique par tube de 3 ml suffit pour un échantillon de 1 g. La cuisson est arrêtée lorsque la préparation a pris un aspect homogène. De fins agitateurs de verre (qui peuvent être ensuite brisés dans le tube sans

inconvenients) favorisent le départ des bulles. L'addition de quelques gouttes d'une solution anti-mousse évite un moussage trop abondant.

Une fois la digestion obtenue, le tube est complété à 3 ml par une solution physiologique. On obture le tube avec un bouchon de caoutchouc après interposition d'une couche de paraffine qui se solidifie à la température du laboratoire.

E) MESURE DES RADIO-ACTIVITES

1. LES APPAREILS DE MESURE.

a) Pour les organes marqués par le P^{32} , l'activité est mesurée au compteur de Geiger-Muller à fenêtre de mica ($1,8 \text{ mg/cm}^2$) dans un château de plomb, après détermination du mouvement propre. Seuls, certains échantillons ont été mesurés au compteur à liquide dans les expériences comportant un fractionnement chimique des plaquettes.

b) Pour les organes marqués par le Cr^{51} et l' Au^{198} , nous utilisons le cristal creux du compteur à scintillations (Tracerlab - Super-scaler) pour rayons gamma. Les activités sont lues pendant une minute, sur un numérateur automatique.

2. LECTURE ET INTERPRÉTATION.

La mesure de la radio-activité étant faite le surlendemain, voire trois jours après le prélèvement (ce délai nous étant imposé par la digestion ou la calcination des organes), les activités lues sont plus faibles que le jour de l'expérience. Si toutes les lectures ne sont pas effectuées au cours de la même séance, une correction de décroissance s'impose, réalisée aisément à l'aide d'abaques ou de tables.

Le chiffre lu sur le compteur est le nombre de coups à la minute donnés par l'échantillon brut. Il convient, bien entendu, de retrancher de ce chiffre le mouvement propre (ou encore « bruit de fond »). Nous pourrions alors, par de simples règles de trois, déterminer l'activité par gramme de l'organe. Connaissant le poids de cet organe, il est facile de déterminer sa radio-activité totale. Notons à ce sujet que le poids du sang est évalué pour le lapin à $1/18^e$ du poids de son corps, et le poids de la moelle osseuse du même animal à $1/45^e$ de son poids [34].

Pour chaque organe, nous introduirons maintenant deux modes d'expression :

a) Le pourcentage de radio-activité totale.

Il traduit le pourcentage de radio-activité de l'organe par rapport à la radio-activité totale injectée au lapin.

$$\% \text{ R.A.} = \frac{\text{radio-activité organe} \times 100}{\text{radio-activité totale injectée}}$$

b) Le coefficient d'absorption différentiel (C.A.D.) ou « differential absorption rate » (D.A.R. des auteurs anglo-saxons).

$$\text{C.A.D.} = \frac{\text{radio-activité par gramme d'organe}}{\text{radio-activité injectée par gramme d'animal}}$$

Ceci permet de mettre en évidence par un chiffre l'importance de la radio-activité fixée, sans faire intervenir le poids de l'organe.

Tous ces chiffres : activité de l'échantillon, activité de l'organe total, du gramme d'organe, le % de R.A., le C.A.D., sont portés sur notre deuxième feuille de mesure. En pratique, chaque organe sera défini par deux facteurs : le % de R.A. et le C.A.D.

IV. — CONTROLES DE MARQUAGE

1) INTRODUCTION

L'expérience montre que la crème plaquettaire récoltée et mise en contact avec la solution marquante ne fixera qu'une faible partie de la radio-activité totale présentée : d'où la notion *d'efficacité du marquage*. En outre, il nous faut calculer la *stabilité de la fixation* obtenue dans le temps, car il est important de savoir si, au bout d'un certain nombre d'heures, l'élément radio-actif est encore fixé sur les plaquettes : dans le cas contraire, on risquerait d'attribuer à ces dernières une activité qui ne leur appartient plus.

Enfin, nous pourrions préciser certaines modalités de *localisation* dans la plaquette, soit par des méthodes chimiques, soit par des méthodes cytologiques.

Pour chaque mode de marquage, nous envisagerons simultanément ces différents contrôles.

2) CONTROLES DU MARQUAGE PAR LE RADIO-PHOSPHORE P^{32}

A) EFFICACITÉ.

Par efficacité, nous entendrons le rendement du marquage, c'est-à-dire le rapport entre l'activité retenue par la suspension plaquettaire pure et l'activité totale de la solution marquante mise en contact.

Calcul de cette efficacité :

Elle peut être appréciée en comparant directement l'activité de la suspension plaquettaire marquée, à l'activité de la solution marquante.

Cependant, il nous a paru préférable de recueillir séparément tous les liquides surnageants, et tous les culots éliminés. Nous portons chacun d'entre eux à une dilution convenable et nous mesurons leur volume à l'aide d'une éprouvette graduée. Nous soumettons l'échantillon, ainsi dilué, à une mesure de radio-activité. Il est alors facile, par un simple jeu de coefficients, de connaître l'activité présentée par les divers culots et surnageants.

Cette ligne de conduite présente en outre l'avantage de vérifier la validité des lavages effectués : en effet, dans un lavage bien conduit, la radio-activité décroît du premier au troisième surnageant.

Voici, à titre indicatif, un exemple de calcul d'efficacité :

Opération « Isotope » (12 octobre 1954)

- 5 mc sur 57 g de crème plaquettaire
- Volume total : 60 ml
- Marquage : 90 mn à + 37°C
- Deux lavages seulement ont été pratiqués.

TABLEAU I

	ACTIVITÉS (en coups-minute)		
	par ml	totalité	en pourcentage
Plaquettes marquées .	176.000	17,3.10 ⁶	2 %
Culot plaquettaire non utilisé	187.000	33 .10 ⁶	3,9 %
1 ^{er} surnageant	1.430.000	715 .10 ⁶	84 %
2 ^e surnageant	231.500	84,5.10 ⁶	10 %
Somme des activités :		850 .10 ⁶	

— Nombre de plaquettes par ml : $1,4 \cdot 10^9$

— Activité par plaquette : $1,1 \cdot 10^{-4}$ c/m

Ces plaquettes ont été injectées à l'homme.

Pour apprécier cette efficacité, plusieurs facteurs sont à considérer :

— la concentration (activité par ml) du mélange :

plaquette - solution marquante;

— la richesse en éléments figurés de ce mélange;

— les temps de contact;

— la température;

(En fait, nous n'avons jamais fait varier les conditions de température, puisque l'incubation a toujours été effectuée au bain-marie à $+ 37^\circ\text{C}$.)

Nous n'avons étudié systématiquement ni l'influence de la concentration en coups/minute, ni celle de la richesse en plaquettes du mélange soumis à l'incubation comme l'ont fait CAMPBELL et SMALL [18]. La concentration était généralement de l'ordre de 1 mc par 7 ml; la contamination par les hématies et les leucocytes était toujours assez faible pour que l'on puisse négliger l'incorporation du P^{32} par ces éléments.

Nous avons pu étudier, à plusieurs reprises, l'influence du *temps de contact*.

Déjà, dans des essais préliminaires, MAUPIN et collaborateurs [24] n'avaient pas trouvé de différences sensibles dans l'efficacité, que l'incubation fût de 1 heure ou de 2 heures à $+ 37^\circ\text{C}$. Ces délais avaient été adoptés dès le début, par analogie avec les conditions de marquage des leucocytes humains. Cependant, MUELLER [10] insistait sur la nécessité de prolonger le marquage durant une nuit, pour obtenir la pénétration du P^{32} dans le compartiment organique des plaquettes du lapin. Désireux de vérifier cette assertion dans le cas des plaquettes humaines, nous avons fait varier les temps d'incubation [24]. Les résultats sont les suivants :

— efficacité du marquage après	1 heure	: 8,3 %
— » »	2 heures	: 7,8 %
— » »	19 heures	: 3,7 %

L'efficacité médiocre ainsi obtenue, contrairement à MUELLER, semble due à une lyse massive des plaquettes, soumises, du fait de l'incubation prolongée, à des conditions biologiques défavorables.

Pratiquement, un délai de marquage de 1 heure à $+ 37^\circ\text{C}$, pour une concentration de l'ordre de 1 millicurie par 10 ml, a

été adopté dans nos expériences. Nous verrons plus loin l'influence de ce délai, pour l'incorporation du radio-phosphore dans les plaquettes.

Dans ces conditions, les plaquettes fixent jusqu'à 12 % du P^{32} qui leur est présenté. L'efficacité n'est plus que de 5 à 8 %, ce qui est encore excellent, si on rejette la partie inférieure du culot contenant les globules blancs.

B) STABILITÉ.

L'étude de la stabilité du marquage des plaquettes par le P^{32} n'a pas fait l'objet d'expériences systématiques. Pour de nombreuses raisons, nous pensons que cette fixation est précaire; en effet la suite le démontre.

C) ESSAI DE LOCALISATION CHIMIQUE.

MAUPIN, LOVERDO (*) et THEILLEUX [24] ont cherché à localiser l'activité spécifique des différents compartiments phosphorés des plaquettes et à préciser l'influence du temps d'incubation sur cette localisation. Ces essais ont fait l'objet de trois expériences successives (S, T, U).

Dans chacune de ces expériences, trois lots de plaquettes humaines marquées pendant 2 heures à $+ 37^{\circ}\text{C}$, en présence de 3 millicuries de P^{32} , sous un volume de l'ordre de 25 ml, ont été fractionnés selon la méthode de SCHNEIDER [25]. Cette méthode permet d'obtenir successivement les fractions acido-soluble, lipidique, nucléique et protéique d'un tissu animal. Sur chaque fraction, les auteurs ont dosé le P^{32} par la méthode colorimétrique de MACHEBŒUF et DELSAL [26] et mesuré les radio-activités à l'aide du compteur à liquide. Les résultats sont exprimés en pourcentage de la radio-activité totale des plaquettes entières (*tableau II*).

Il ressort de la lecture de ce tableau :

- que la grande majorité du P^{32} demeure cantonnée dans la fraction acido-soluble;
- qu'un faible échange, dans le temps, s'opère vers les fractions lipidique et protéique;

(*) Chargé de Recherches au Laboratoire Central de l'Hôpital Beaujon. Nous lui sommes particulièrement reconnaissant de l'aide qu'il nous a apportée dans la rédaction de cette thèse.

— qu'une quantité négligeable se fixe dans la fraction nucléique, chimiquement peu importante dans les plaquettes [3].

TABLEAU II

	EXPÉRIENCE		
	S	T	U
Fraction acido-soluble....	83 %	92 %	93,5 %
Fraction lipidique	14 %	4,3 %	1,5 %
Fraction nucléique	1,6 %	1,6 %	2 %
Fraction protéique	1,4 %	2,1 %	3 %

Dans un travail récent, O. FERRINI [27] reprend cette étude. Il étudie la distribution du P^{32} dans les trois compartiments acido-soluble, lipidique et protéique, après 4, 8 et 14 heures. Mais il introduit un facteur nouveau : le milieu de suspension. Opérant avec du plasma homologue, avec une solution physiologique à 0,9 %, avec du citrate de soude à 3,8 % et une solution acide citrique glucosé (A.C.D.), il note une incorporation importante dans le compartiment protéique avec l'A.C.D. (75 % à la quatrième heure, 75 % à la huitième heure, 90 % à la quatorzième heure), aux dépens du compartiment acido-soluble. Cette incorporation est encore importante avec un soluté physiologique, mais à la quatorzième heure seulement (55 %), de même avec le citrate de soude (45 %). Le compartiment lipidique n'est pas modifié.

3) CONTROLE DU MARQUAGE PAR LE RADIO-CHROME Cr^{51}

A) EFFICACITÉ.

Nous avons consacré deux expériences à l'étude de l'influence du temps de marquage.

Opération « Jouvence »

Une récolte plaquettaire a été répartie en quatre lots de 8 ml pour subir des temps de marquage différents, en présence d'une même activité de solution marquante de radio-chromate (1 ml, soit 55 microcuries).

— Rendement du marquage après	5 mn	: 24 %
— » » »	10 mn	: 15 %
— » » »	30 mn	: 12 %
— » » »	60 mn	: 9 %

Dans cette expérience, un seul lavage avait été effectué. D'autre part, les mesures étaient pratiquées à l'aide d'un compteur de Geiger-Muller, ce qui introduit de légères erreurs dues au défaut de sensibilité du compteur vis-à-vis du Cr^{51} , émetteur de rayons gamma.

Opération « Bain-Marie »

La récolte plaquettaire de 32,5 ml est additionnée de 1 ml de solution marquante, soit 950 microcuries. L'ensemble de la solution est réparti en quatre pots siliconés, à raison de 4×8 ml, à l'aide d'une pipette graduée. Les 1,5 ml restants sont mis de côté pour un contrôle hématologique (21,3 milliards de plaquettes par ml).

— Le premier pot subit une incubation au bain-marie à 37°C , pendant 5 mn ;

— Le deuxième pot subit une incubation identique, suivie de l'addition de 200 U.I. d'acide ascorbique (*);

— Le troisième pot reste 10 mn au bain-marie à $+ 37^{\circ}\text{C}$;

— Le quatrième pot est conservé 1 heure dans les mêmes conditions.

Une fois l'incubation terminée, chaque suspension, ainsi marquée, est soumise à trois centrifugations-lavages, nous permettant de retenir trois surnageants : contrairement à notre protocole expérimental habituel, les culots plaquettaires n'ont pas été transvasés. C'est donc le *même culot* qui a subi trois lavages successifs avant d'être soumis à la mesure.

On opère des prélèvements sur les trois surnageants et sur le culot. On les dilue comme suit dans une solution isotonique contenant 1 % de séquestrène disodique.

— 1^{er} surnageant : 1/400

— 2^e surnageant : 1/40

— 3^e surnageant : 1/4

— culot plaquettaire : 1/20

L'activité exprimée en pourcentage de radio-activité totale se répartit conformément au tableau III.

On voit, à la lecture de ce tableau, que la radio-activité décroît rapidement dans les surnageants. Seul, le troisième sur-

(*) On sait que l'acide ascorbique est un réducteur. Son addition a été recommandée par les auteurs américains pour arrêter le marquage des hématies, dont la membrane est perméable à l'anion chromate, mais imperméable au chrome cationique (32) (cf. p. 28).

nageant, de la suspension plaquettaire incubée pendant 5 mn, présente une activité plus forte, mais il contenait accidentellement des plaquettes. Il en ressort, en outre, que le délai de marquage le meilleur se situe aux alentours de 5 mn. C'est ce délai que nous avons adopté. Il est notablement inférieur à celui donné par REISNER et collaborateurs [15].

TABLEAU III

	INCUBATION			
	5 mn	5 mn + acide ascorbique	10 mn	60 mn
Plaquettes (totalité) ...	45 %	35 %	42 %	48 %
1 ^{re} surnageant	49,5 %	59 %	42 %	48 %
2 ^e surnageant	2,7 %	3,9 %	6,4 %	4,9 %
3 ^e surnageant	3,1 %	2 %	1 %	0,75%

La validité de ce marquage a été confirmée par la suite par de très nombreuses expériences. Nous obtenons une fixation de 6 à 10 % de la radio-activité totale sur les culots plaquettaires purs, tandis que les culots plaquettaires éliminés au cours des opérations de lavage (1^{er} et 2^e culots) retenaient 10 à 18 %.

Connaissant en coups minute la radio-activité de la suspension plaquettaire, et sa teneur en éléments figurés, nous pouvons définir l'*efficacité par plaquette*. Dans toutes nos expériences, elle est de l'ordre de 10^{-5} coups-minute.

Opération « Nouvelle Rate » :

$$\frac{47.000}{5.520.000.000} = 8,7. 10^{-5} \text{ c/m}$$

Opération « Pyrogène » :

$$\frac{65.200}{1.708.000.000} = 3,8. 10^{-5} \text{ c/m}$$

Opération « Qualité » :

$$\frac{119.000}{5.540.000.000} = 2,06. 10^{-5} \text{ c/m}$$

Opération « Rasibus » :

$$\frac{86.000}{9.150.000.000} = 9,4. 10^{-6} \text{ c/m}$$

Opération « Suspense » :

$$\frac{41.300}{3.872.000.000} = 1,3. 10^{-6} \text{ c/m}$$

Opération « Vérité » :

$$\frac{136.700}{5.410.000.000} = 2,5. 10^{-6} \text{ c/m}$$

B) STABILITÉ DU MARQUAGE.

Elle a fait l'objet de deux types d'expérience; les premières plus grossières, les secondes plus précises.

a) Les premières consistent à laver le culot plaquettaire abandonné sur la pailleasse du laboratoire (température aux environs de + 22°C) sans précautions spéciales, après 3 heures et après 24 heures. Elles ont été pratiquées dans l'opération « *Bain-Marie* ».

Les plaquettes marquées ont été lavées une première fois 3 heures après la fin de l'incubation, puis additionnées d'un certain volume de soluté isotonique, lavées une seconde fois après 24 heures de séjour sur la pailleasse du laboratoire. Les centrifugations-lavages étaient opérées dans des tubes de Vernes siliconés de 5 ml. Les surnageants étaient recueillis. Voici les résultats exprimés en pourcentage de radio-activité (*tableau IV*).

TABLEAU IV

	INCUBATION			
	5 mn	5 mn + acide ascorbique	10 mn	60 mn
Surnageant 3 h	3 %	3,5 %	4,65 %	3,1 %
Surnageant 24 h	22 %	18,7 %	15,5 %	20 %
Plaquettes lavées en fin d'expérience	74 %	77,5 %	80 %	77 %

Il apparaît :

- qu'il n'y a aucune différence significative dans la stabilité en fonction du temps d'incubation. Un délai de marquage de 5 à 10 mn est donc valable;
- que l'addition d'acide ascorbique ne présente pas d'intérêt dans le marquage des plaquettes.

b) Des expériences plus fines nous ont conduit à mettre les plaquettes marquées dans les conditions les plus proches des conditions physiologiques. Les éléments marqués inclus dans des sacs de cellophane sont soumis à la dialyse dans la cavité péritonéale d'un lapin durant 24 heures. On pouvait s'attendre à ce que le radio-chromate, libéré des plaquettes, diffuse au fur et à mesure dans le liquide péritonéal puis dans la circulation générale de l'animal. Nous avons là un moyen pratique d'apprécier la libération du radio-chromate des plaquettes, donc de déterminer la stabilité du marquage.

Cette opération étant inédite, certaines conditions techniques méritent d'être précisées.

Opération « Ressac » (27 mars 1957)

a) La cellophane utilisée est un produit de qualité commerciale, servant à la dialyse de solutions de protéines, avant l'électrophorèse selon TISELIUS, livrée sous forme de manchons; elle est ligaturée soigneusement à une extrémité, puis à l'autre dès que le remplissage est effectué.

b) Pour prévenir une infection microbienne à point de départ péritonéal, on ajoute à la suspension incluse dans le sac, ainsi formé, une dose d'antibiotiques, à raison de 1.000 U.I. de pénicilline et 1.000 gamma de streptomycine par ml.

c) L'inclusion dans la cavité péritonéale n'offre aucune difficulté : le lapin est anesthésié à l'éther. Le sac est fixé à la paroi abdominale par un fil de soutien.

Le sac sera retiré, dans le délai fixé, par simple ouverture, après anesthésie, ou après sacrifice de l'animal, si on désire mesurer l'activité des organes. Dans les deux cas, on prélèvera 3 ml de sang pour connaître l'importance de la diffusion du radio-isotope dans la circulation générale.

d) Le contenu du sac sera recueilli dans un tube de 35 ml silicé, préalablement taré. Il sera additionné de soluté isoto-

nique de Cl Na. Un prélèvement sera fait pour mesurer son activité. Le reste sera soumis à une centrifugation-lavage, isolant ainsi un surnageant et un culot, dont nous déterminerons la radio-activité.

Les parois du sac gardant inévitablement une radio-activité, liée aux plaquettes adhérentes à la cellophane, nous couperons le sac en fragments assez fins, que nous mettrons dans 10 ml d'un soluté isotonique de Cl Na. Une agitation entraînera les plaquettes. Cette eau de lavage sera soumise à une mesure de radio-activité : il en sera de même des débris de sac, repris après ce lavage.

Nous aurons ainsi à mesurer les activités :

- de la suspension contenue dans le sac après 24 heures (culot + surnageant);
- du liquide de lavage du sac;
- des débris du sac;
- du sang de l'animal et de ses différents organes.

La récolte plaquettaire (32 g) est mise en contact, 11 mn au bain-marie à 37°C, avec 5,7 ml de radio-chromate⁵¹ de sodium (175 microcuries/ml). Après trois centrifugations, nous obtenons 3,8 g de crème plaquettaire marquée, à laquelle nous ajoutons 0,4 ml du mélange d'antibiotiques, et 19 ml de soluté isotonique de Cl Na.

L'efficacité du marquage est de 10 %.

L'efficacité par plaquette est de $3,7 \cdot 10^{-6}$ coups/minute.

Trois lapins ont subi l'inclusion dans leur péritoine de ces sacs de cellophane et ont été sacrifiés après 24 heures.

- chez 2 d'entre eux, le sac contenait la suspension plaquettaire (respectivement 6 ml et 4,5 ml);
- chez le troisième, le sac contenait 7,5 ml de la solution marquante diluée au 1/50^e.

Parallèlement, une expérience de dialyse *in vitro* était réalisée : un sac de cellophane identique contenant 4,5 ml de suspension plaquettaire marquée est plongé dans 458 ml de soluté isotonique de Cl Na, à + 37°C. Son contenu est prélevé 24 heures plus tard.

Les résultats furent les suivants (*tableaux V, VI, VII et VIII*).

1) Expériences de dialyse *in vitro* (tableau V) :

Activité incluse ($4,5 \times 272.000$ c/m)	=	1.224.000 c/m
Activité perdue par dialyse (458×3.110) =		476.000 c/m
Contenu du sac après 24 heures		787.000 c/m
Liquide de lavage du sac		41.300 c/m
Débris du sac		8.750 c/m
Somme des activités des fractions :		1.313.050 c/m
(7,5 % en excès sur le calcul)		

Des plaquettes contenues dans le sac, on retire seulement 11,6 % de l'activité par un nouveau lavage.

En conclusion : 36 % de l'activité initiale passent dans le liquide de dialyse, alors que 53 % restent liés aux plaquettes.

2) Expériences de dialyse *in vivo* :

a) Dialyse de 24 heures *in vivo* de la solution marquante (lapin n° 1) (tableau VI) :

Activité incluse ($7,3 \times 260.000$)	=	1.900.000 c/m
Contenu du sac après 24 heures		4.340 c/m
Lavage du sac		2.130 c/m
Débris du sac		6.646 c/m
Total retrouvé :		13.116 c/m

De l'activité incluse, la quasi totalité (99 %) a diffusé dans l'organisme de l'hôte. 225.390 c/m, soit 17 % seulement peuvent être localisés après 24 heures dans les organes prélevés.

b) Dialyse de 24 heures *in vivo* des plaquettes marquées (lapin n° 3) (tableau VII) :

Activité incluse	1.623.000 c/m
Contenu du sac après 24 heures	568.000 c/m
Lavage du sac	82.000 c/m
Débris du sac	37.000 c/m
Total retrouvé :	687.000 c/m

Fractionnement du contenu du sac :

— culot plaquettaire : 89 %

— surnageant : 11 %

On localise 90.000 c/m (soit 5,6 %) dans l'organisme de l'animal : l'activité relative de l'exsudat péritonéal et celle des urines sont supérieures à celle du sang.

Il apparaît donc que :

- 42,3 % de l'activité initiale sont retrouvés dans le sac ;
- dans le contenu de ce sac, 89 % de l'activité restent liés aux plaquettes (37,6 % de l'activité initiale).

c) Dialyse de 24 heures *in vivo* des plaquettes marquées (lapin n° 4) (*tableau VIII*) :

Activité incluse	1.212.000 c/m
Contenu du sac après 24 heures	550.000 c/m
Lavage du sac	53.400 c/m
Débris du sac	19.300 c/m
Total retrouvé :	622.700 c/m

On localise 51.000 c/m (soit 4.2 %) dans l'organisme de l'hôte. Là encore, l'activité relative de l'exsudat péritonéal est très forte (13 fois plus que celle du sang).

Comme dans l'expérience précédente (lapin n° 3), il apparaît que :

- 51,3 % de l'activité initiale sont retrouvés dans le sac de cellophane ;
- dans le contenu de ce sac, 86 % de la radio-activité restent liés aux plaquettes (soit 44,1 % de l'activité initiale).

Les conclusions générales à tirer de cette opération sont donc que, dans ces opérations de dialyse, la moitié environ de l'activité initiale abandonne les plaquettes après 24 heures (53 % dans l'expérience de dialyse *in vitro*, 37,6 % dans les expériences de dialyse *in vivo*). La stabilité du marquage par le radio-chromate, moins précaire que celle du P^{32} , est encore faible après 24 heures. Nous la considérons cependant comme suffisante, car la plupart de nos expériences portent sur 20 mn.

c) ESSAI DE LOCALISATION CYTOLOGIQUE.

Nous avons essayé de déterminer si le marquage des plaquettes par le Cr^{51} intéressait les granules.

Dans ce but, nous avons soumis un échantillon de plaquettes marquées (radio-activité totale : 2.060.000 c/m) à une lyse par trois congélations-décongélations successives après addition de 10 ml d'eau distillée. A l'issue de ces opérations, une centrifugation de 20 mn à 3.800 tours/minute permet de séparer un *surageant* opalescent et un sédiment contenant des structures plaquettaires. Le *surageant* est repris et tourné dans une centrifugeuse refroidie à + 2°C, pendant 90 mn à 18.000 tours/minute (30.000 × G), nous permettant d'isoler ainsi les granules plaquettaires. Ceux-ci sont lavés par une nouvelle centrifugation pendant 60 mn à 18.000 tours/minute dans la même centrifugeuse refroidie.

Finalement, nous avons retrouvé (*tableau IX*) :

Dans le culot granulaire lavé	12.041 c/m
Dans le premier sédiment	950.000 c/m
Dans le premier surageant opalescent (riches en protéines plaquettaires) ..	1.070.000 c/m
Dans le surageant de lavage des granules	6.600 c/m

Bien que cette expérience soit isolée et mérite une confirmation, nous pouvons en tirer quelques conclusions intéressantes :

— La lyse des plaquettes, dans les conditions expérimentales relatées ci-dessus, entraîne en solution environ 40 à 50 % des protéines plaquettaires [3]. Si nous tenons compte des radio-activités trouvées dans le *surageant* et le culot des plaquettes non lysées, nous retrouvons une semblable répartition.

— L'activité fixée sur les granules apparaît négligeable.

4) CONTROLE DU MARQUAGE PAR L'OR COLLOÏDAL RADIO-ACTIF (Au¹⁹⁸)

A) EFFICACITÉ.

1) Nous avons essayé, dans des expériences préliminaires, de déterminer les conditions de fixation de l'or colloïdal radio-actif sur les plaquettes, parallèlement au travail sur la fixation de l'or colloïdal sur les leucocytes (*).

(*) Voir *Thèse* PERRAULT, « Etude du destin des leucocytes transfusés après marquage par différents radio-isotopes », Paris, 1957.

A 450 ml de sang *total* prélevé sur une solution A.C.D. (acide citrique glucosé), on ajoute 3 ml de solution marquante d'or colloïdal (531.000 c/m). Après 48 heures de mise en contact à la température du laboratoire, on a pu isoler une quantité faible de plaquettes, représentant environ le 1/6 de leur nombre théorique. Les plaquettes recueillies avaient fixé une activité de 2.106 c/m, soit 0,5 % de l'activité totale.

Compte tenu des difficultés d'isolement des plaquettes dans ces conditions, leur marquage dans le sang total ne nous paraît pas sélectif et ne mérite pas d'être retenu.

2) Influence du temps d'incubation sur l'efficacité du marquage :

Opération « Lorelei »

Une récolte plaquettaire de 35 ml a été mise en contact avec 38 ml de solution marquante (1.524.000 c/m). Le mélange est réparti en trois lots. Chacun d'eux est soumis à des temps d'incubation différents (10 mn, 20 mn, 60 mn) puis lavé deux fois.

après 10 mn d'incubation :

— les plaquettes lavées fixent	1,9 %
— les culots éliminés fixent	3,9 %

après 20 mn :

— les plaquettes lavées fixent	5,5 %
— les culots éliminés fixent	4,4 %

après 60 mn :

— les plaquettes lavées fixent	16,4 %
— les culots éliminés fixent	21,6 %

Dans ces conditions, nous n'avons pas voulu prolonger l'incubation au-delà de 60 mn, pour ne pas altérer les structures plaquettaires. Ce délai de 60 mn nous paraît le meilleur : nous l'avons adopté dans la suite de nos expériences.

Au cours des expériences ultérieures, nous avons obtenu dans le marquage des plaquettes par l'Au¹⁹⁸, provenant d'un sang fraîchement recueilli sur une solution de séquestrène, une efficacité de 2 % à 7,7 % : ce chiffre correspondant aux plaquettes pures réellement utilisées pour l'expérimentation. Si on y ajoute le pourcentage de radio-activité des culots moins purs que nous avons éliminés, nous obtenons des valeurs d'efficacité de 6 à 23 %.

L'efficacité nous a paru moindre lorsque la solution marquante était ajoutée sans dilution préalable (2,2 %).

De même, lorsque nous avons tenté de marquer par l'or colloïdal radio-actif des plaquettes provenant d'un sang citraté frais (efficacité 1,12 %) ou d'un sang citraté de 24 heures (efficacité de 0,2 % à 0,8 %), le rendement est notablement inférieur. A titre d'essai, nous avons marqué les plaquettes d'un sang de cheval. Après 60 mn d'incubation à 37°C, l'efficacité est faible (0,65 %), peut-être parce que le sang a été prélevé sur citrate.

L'efficacité par plaquette, contrairement à ce que nous avons observé avec le radio-chromate, est très variable. Les chiffres extrêmes relevés sont 8,4. 10⁻⁴ c/m (opération « Or Noir ») et 2,2. 10⁻⁴ c/m (opération « Windsor »).

B) STABILITÉ DU MARQUAGE PAR L'OR.

Comme pour l'étude de la stabilité du marquage par le radio-chrome, deux types d'expérience ont été réalisés.

1) Des échantillons de suspensions plaquettaires marquées sont abandonnés 2 heures et 24 heures, et lavés. Les surnageants et le culot plaquettaire sont recueillis et soumis à des mesures d'activité, (opération « Ultra »).

a) Un échantillon est abandonné à la température du laboratoire (+ 22°C dans la journée).

Au départ, nous avons 1 ml de suspension plaquettaire marquée, soit 41.600 c/m (efficacité 5,5 %) (tableau X) :

1 ^{er} surnageant (2 heures)	1.169 c/m
2 ^e surnageant (24 heures)	591 c/m
Culot plaquettaire	39.446 c/m
Total :	41.206 c/m

Il apparaît que 95,6 % de l'activité restent liés aux plaquettes après 24 heures, ce qui est remarquable.

b) Un autre échantillon est abandonné au bain-marie à + 37°C.

L'activité de la suspension (1,5 ml) est de 62.400 c/m.

TABLEAU XI

1 ^{er} surnageant (2 heures)	906 c/m
2 ^e surnageant (24 heures)	403 c/m
Culot plaquettaire	58.130 c/m
Total :	59.439 c/m

97,5 % de la radio-activité présentée demeurent liés aux plaquettes après 24 heures. Cette expérience confirme pleinement la précédente.

2) Un contrôle de stabilité plus précis a été entrepris par la technique des sacs de cellophane inclus dans le péritoine de lapin (*opération « Trésor »*).

Le protocole expérimental est identique à celui de l'opération « *Ressac* », qui étudiait la stabilité du marquage par le radio-chromate. Cependant, nous n'avons pas inclus de solution marquante dans le sac de cellophane puisque, par définition, une solution colloïdale ne dialyse pas.

a) Dialyse de 24 heures effectuée *in vitro*, dans un flacon Pyrex de 500 ml rempli d'un soluté isotonique de Cl Na et porté à + 37°C. Dans le sac, nous avons inclus 5 ml (126.500 c/m) de suspension plaquettaire (efficacité 1,12 %). Après 24 h, la radio-activité se répartit comme suit (*tableau XII*) :

Liquide dialysant	3.400 c/m
Plaquettes { culot	108.600 c/m
{ surnageant	20.000 c/m
Sac (eau de lavage	
+ débris du sac	17.600 c/m
Total :	149.600 c/m

Une erreur en excès de 23.100 c/m (soit 18 %) s'introduit dans nos résultats.

Par rapport à la somme des radio-activités mesurées, il est intéressant de noter que :

- l'activité conservée par les plaquettes est de 72,6 %
- 2,3 % de l'activité initiale a dialysé.

En outre, du point de vue numérique, on retrouve, 24 heures après, 76 % du chiffre des plaquettes introduites dans le sac.

b) Dialyse de 24 heures effectuée *in vivo* (sac inclus dans le péritoine d'un lapin).

Voici quelle est la répartition de la radio-activité initiale (126.000 c/m sous un volume de 5 ml de suspension plaquettaire) 24 heures après (*tableau XIII*) :

Sang périphérique du lapin	négligeable (300 c/m)
Plaquettes	{ culot 93.000 c/m
	{ surnageant 19.800 c/m
Résidu du sac ,.....	38.300 c/m
Total :	151.400 c/m

soit encore une erreur en excès de 20 % sur le calcul. Ainsi :

- 61,4 % de la radio-activité initiale restent liés aux plaquettes ;
- 25,4 % sont perdus avec le sac ;
- On retrouve, après 24 heures, dans le sac, 73 % du chiffre initial des plaquettes.

c) Dialyse de 48 heures effectuée *in vivo* (sac inclus dans le péritoine d'un lapin).

L'activité incluse est de 126.500 c/m sous un volume de 5 ml.

Après 48 heures, cette activité se répartit de la façon suivante (*tableau XIV*) :

Sang périphérique du lapin	négligeable (560 c/m)
Plaquettes	{ culot 95.500 c/m
	{ surnageant 9.400 c/m
Résidu du sac	42.000 c/m
Total :	147.500 c/m

Une nouvelle erreur en excès de 14 %, par rapport aux valeurs théoriques, s'introduit dans nos mesures.

Après 48 heures :

- 64,7 % de l'activité initiale restent liés aux plaquettes ;
- 28,4 % sont perdus avec le sac ;
- Par ailleurs, 11,6 % du nombre initial des plaquettes sont retrouvés dans le sac (numération difficile).

De cette étude, on peut tirer une conclusion très intéressante qui est :

— l'étonnante stabilité du marquage des plaquettes par l'or colloïdal radio-actif Au¹⁹⁸ après 24 heures comme après 48 heures, *in vivo* aussi bien qu'*in vitro*.

Si on compare la stabilité de la fixation de l'Au¹⁹⁸ sur les plaquettes à celle obtenue sur les leucocytes, on s'aperçoit qu'elle est également excellente dans les premières 24 heures (Thèse PERRAULT).

L'or colloïdal radio-actif nous paraît donc un radio-élément de choix pour le marquage des plaquettes.

c) ESSAI DE LOCALISATION CYTOLOGIQUE.

Une tentative de localisation de radio-activité dans les granules plaquettaires a été effectuée : Opération « *Or Noir* ». Un culot plaquettaire marqué (donnant 3.305.000 c/m, avec une efficacité de 4,1 %) est additionné de séquestrène et centrifugé dans un flacon de 500 ml (modèle standard) pendant 15 mn à 2.600 tours/minute.

Le surnageant est décanté (402 ml); le culot plaquettaire est repris par un peu d'eau distillée, est congelé et décongelé, puis agité pendant 30 mn dans un microbroyeur Danguoumau. Une première centrifugation, dans un pot de 35 ml, pendant 30 mn à 3.400 tours/minute, élimine dans le culot les structures plaquettaires résiduelles. Le surnageant, faiblement opalescent, est réparti en deux tubes de lucite et tourné 90 mn à 18.000 tours/minute ($30.000 \times G$) dans une centrifugeuse refroidie ($+ 2^{\circ}C$). Les culots obtenus, contenant des granules plaquettaires, sont réunis dans un seul tube, additionnés d'un soluté isotonique, et centrifugés une heure à la même vitesse dans la même centrifugeuse. Le culot obtenu est soumis à une mesure de radio-activité :

granules lavés : 159 c/m

pour une activité de 2.515.000 c/m portant sur les culots plaquettaires lysés.

L'activité des granules plaquettaires, dans nos conditions d'expérience, est donc négligeable.

CHAPITRE II

Résultats expérimentaux

I. — CHEZ L'HOMME

De nombreuses expériences de transfusion à l'homme ont été réalisées pour connaître la durée de survie des plaquettes transfusées : cet aspect du problème n'étant pas le but essentiel de notre travail, nous ne rappellerons que quelques travaux récents : REISNER et ses collaborateurs (Boston, 1956) trouvent une survie de 8 jours chez les sujets normaux. Elle paraît conditionnée par l'état pathologique du receveur, plus longue chez les aplasiques, qui ne présentent pas d'anticorps, que dans les purpuras immunologiques. Elle atteint 9 à 11 jours chez les malades splénectomisés. AAS et GARDNER [21] admettent une survie de 9 à 11 jours pour les plaquettes marquées au radiochrome, transfusées à des receveurs normaux. DESAI, SMALL, MEDNICOFF [16, 17] notent que les plaquettes marquées *in vivo* par le P^{32} survivent plus longtemps lorsqu'elles proviennent de sujets normaux que de sujets polyglobuliques. Par contre, JULIARD, MAUPIN, LOVERDO [9b], en 1952, n'avaient pu tirer aucune conclusion quant à la survie de plaquettes sanguines transfusées, marquées *in vitro* par le P^{32} .

Nous insisterons sur un autre aspect du problème : la distribution des plaquettes marquées, par organe ou par tissu chez l'homme, à différents temps de l'expérience.

A) LE PROTOCOLE EXPERIMENTAL

Il n'est évidemment pas superposable à celui d'une expérimentation animale. Il en diffère par les précautions liées à toute transfusion humaine et par les conditions de mesure des activités.

1. PRÉCAUTIONS LIÉES A L'ACTE TRANSFUSIONNEL.

Trois précautions essentielles dominent cette opération.

a) *La compatibilité du groupe sanguin :*

Il est recommandé d'opérer en isogroupe, car la présence des agglutinogènes A et B dans les plaquettes a été récemment démontrée par de nombreux auteurs [28, 29].

L'existence de facteurs du système Rhésus paraît moins certaine (TULLIS, DARRIGOL).

A ce sujet, il est curieux de noter que l'incompatibilité de groupe ne semble pas influencer la durée de survie des plaquettes marquées transfusées, comme l'a récemment montré FERRINI [27].

b) *L'absence, dans la crème plaquettaire à injecter, de substances pyrogènes :*

L'apport de substances pyrogènes est évité par les précautions générales respectées dans tout centre de transfusion : soins extrêmes apportés au lavage du matériel, dont la stérilisation doit être effectuée sans délai, filtration sur amiante des solutions anti-coagulantes et des solutions employées lors de la préparation de la suspension plaquettaire. Le matériel de transfusion doit être parfaitement hydrofugé par les silicones ou autre procédé, comme pour toute transfusion de plaquettes [23].

c) *Une asepsie rigoureuse à tous moments de l'expérience, depuis la récolte du sang jusqu'à la transfusion :*

Les méthodes d'asepsie employées ne diffèrent en rien de celles en usage dans les disciplines chirurgicales : elles comportent l'emploi d'un matériel de verrerie stérilisé, le port de gants, le flambage à l'alcool d'instruments, etc...

La séparation de la suspension plaquettaire est opérée dans une cabine aseptique munie d'une lampe à rayons ultra-violet germicides.

2. CONDITIONS DE MESURE DES RADIO-ACTIVITÉS.

Le protocole expérimental utilisé chez l'animal et qui comporte le prélèvement des organes, n'est évidemment plus valable pour l'homme.

1° La plupart des contrôles directs ont porté sur des échantillons de sang prélevés à des intervalles de temps choisis. Une

veine est ponctionnée à l'aide d'une aiguille à plateau siliconée et stérile (naturellement, dans le souci d'éviter des contaminations, on s'adressera à une veine différente de celle qui a servi à l'injection); le sang est recueilli dans un tube siliconé sur deux gouttes d'héparine. Les mesures de radio-activité sont opérées sur le sang total et chaque fois que possible sur ses fractions : la comparaison des activités du plasma riche en plaquettes et du plasma déplaqueté, nous a fourni, à cet égard, des résultats intéressants.

D'autre part, l'urine a été recueillie dans plusieurs expériences, en réservant pour chaque miction un bocal muni d'un cristal de thymol. En notant l'heure et les volumes d'urine, il était facile de calculer l'élimination urinaire de l'isotope dans un temps donné et sa clearance (ou taux d'épuration plasmatique).

Dans quelques cas, des mesures d'activité ont pu être pratiquées sur la rate, extirpée chirurgicalement 10 à 20 mn après l'injection.

2° Un nouveau mode d'exploration est proposé : il est possible de suivre, à l'aide d'un compteur à scintillations, muni d'un localisateur de surface, la distribution chez l'homme de plaquettes marquées par le *radio-chromate*, émetteur de rayons gamma. Cette exploration, qui se fait par voie externe, à travers les téguments, ne comporte ni prélèvement, ni effusion de sang, et peut être répétée indéfiniment; elle fournit donc de précieuses indications sur l'évolution dans le temps de la répartition plaquettaire. Elle s'associe d'ailleurs aux prélèvements d'échantillons, selon la méthode précédente.

B) LES RESULTATS

1. DANS UNE PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES (3 transfusions), les patients ont reçu une crème plaquettaire marquée par le P^{32} (2 cas) et par le Cr^{51} (1 cas). Les contrôles de radio-activité ont été effectués directement sur le sang et l'urine (3 cas, et sur un échantillon de rate (2 cas).

a) La première transfusion a une valeur historique puisqu'elle a été effectuée le 5 décembre 1951 et représente sans doute la première transfusion de plaquettes marquées qui ait été réalisée. Elle a fait l'objet d'une publication [9b], ce qui nous permettra de la rapporter brièvement.

Le malade A... (leucose aiguë) recevait 100 ml d'une suspension plaquettaire riche de 1.245.000 plaquettes/mm³, donnant une radio-activité totale de 18.450.000 c/m.

Sang et urines étaient prélevés pendant trois jours.

Lors de cette expérience, le sang était recueilli sur héparine pour éviter la dilution, et une importante fraction (10 ml) additionnée d'une quantité égale d'une solution de subtosan à 5 %. La sédimentation accélérée fournissait après 40 minutes un culot globulaire rouge et un surnageant qui renfermait pratiquement la totalité des plaquettes de 10 ml de sang. Le liquide surnageant décanté avec soin et centrifugé se séparait en une phase liquide (plasma dilué) et un culot plaquettaire de faible volume.

Cette méthode de sédimentation fractionnée permettait de mesurer sur chaque échantillon de sang :

- la radio-activité du sang total (1 ml);
- la radio-activité du plasma (après correction de la dilution par le subtosan);
- la radio-activité du culot globulaire rouge;
- la radio-activité du culot plaquettaire.

La radio-activité du sang total par rapport à la radio-activité injectée se répartissait comme suit :

- | | |
|---|-------|
| — 2 heures après le début de la transfusion : | 6,5 % |
| — 3 heures » » » : | 6 % |
| — le lendemain » » » : | 9 % |
| — le surlendemain » » » : | 6,6 % |
| — le 3 ^e jour » » » : | 5,7 % |

(sous réserve de la constance de la masse sanguine de l'opéré).

Sur les fractions de sang :

- la radio-activité du plasma diminuait régulièrement tandis que celle des hématies s'élevait discrètement;
- la radio-activité du culot plaquettaire représentait, en fin de transfusion (et pour 5 ml de sang), 0,55 % de la radio-activité totale injectée, pour devenir négligeable les jours suivants (0,05 % et 0,07 %).

On pouvait donc admettre, dans ces conditions peu favorables à leur survie, une lyse ou une captation rapide des plaquettes transfusées, tandis que la diffusion du P³² à partir du sang circulant était insensible à partir de la 2^e heure.

— L'élimination urinaire du P³² atteignait 13,12 % peu avant la fin du 3^e jour.

b) Le 12 octobre 1954, une injection de plaquettes marquées par le P³² est effectuée à l'occasion d'une splénectomie, chez un malade qui présentait une pancytopenie dont la rate était rendue responsable.

Malade G..., 57 kg, vingt et un ans (Hôpital Militaire Percy).

On injecte rapidement sous un volume de 100 ml, 140 milliards de plaquettes représentant une activité totale de 17.300.000 c/m (efficacité du marquage : 2 % pour la suspension plaquettaire pure). La rate est enlevée chirurgicalement (Docteur DUBAU, Docteur BOURDET). Nous prenons comme repère dans le temps, le moment où une pince a été posée sur les vaisseaux spléniques, soit 11 minutes après la fin de la transfusion.

Après calcination, nous mesurons l'activité de la rate. Elle est de 20.700 c/m par gramme de poids frais, soit un C.A.D. de 69, et représente pour la totalité de l'organe 22,7 % de l'activité injectée.

— des mesures de radio-activité sont également pratiquées sur le sang et ses fractions. Voici l'évolution de cette activité dans le temps, rapportée à 1 g d'échantillon (tableau XV).

	<i>Sang total</i>	<i>Plasma plaquettaire</i>	<i>Plasma déplaqueté</i>	<i>Différence liée aux plaquettes (*)</i>
6 minutes	2.805 c/m	2.190 c/m	1.225 c/m	530 c/m
12 minutes	1.770 c/m	1.310 c/m	768 c/m	295 c/m
2 heures	612 c/m	860 c/m	282 c/m	320 c/m
18 heures	353 c/m	304 c/m	61 c/m	133 c/m
42 heures	189 c/m	84 c/m	59 c/m	14 c/m
66 heures	168 c/m	70 c/m	46 c/m	13 c/m
6 jours	95 c/m	38 c/m	44 c/m	négligeable

(*) Les chiffres portés dans cette colonne ont subi une correction; en effet, par soustraction des valeurs d'activité du plasma déplaqueté, à celles du plasma plaquettaire, nous obtenons respectivement 965, 542, 578, 243, 25, 24 c/m. Mais ces chiffres correspondent à la différence d'activité liée aux plaquettes de 1 g de plasma. L'hématocrite du malade étant de 45 %, nous rapportons les résultats à 1 g de sang, en multipliant ces chiffres par le coefficient 0,55.

Les prélèvements effectués dans les toutes premières minutes (6' et 12' minutes) manquaient vraisemblablement d'homogénéité, ce qui explique les fortes activités des échantillons de sang (approximativement 8.700.000 c/m, soit près de 50 % de radio-activité totale injectée). Nous pouvons seulement conclure à une décroissance rapide des activités du sang. Malgré notre désir d'exprimer par des chiffres l'activité liée aux plaquettes, jusqu'au 6' jour, nous devons y renoncer, car la somme des activités des fractions sanguines demeure très inférieure à l'activité du sang total (la radio-activité des culots hématiques, non mentionnée, étant négligeable).

Par ailleurs, l'élimination urinaire du P³² représente, en 3 jours, 19,2 %, et en 5 jours : 21,7 % de l'activité totale injectée.

Le renseignement le plus certain à tirer de cette expérience est la forte activité de la rate, prélevée peu de temps après l'injection. Mais, en serait-il de même avec une rate normale? Notons à ce propos qu'elle pesait 190 g, après évacuation spontanée de 60 g de sang dans le plateau où elle avait été déposée, et que son aspect était proche de la normale, l'examen histologique évoquant une rate de stase (Professeur DARBON).

c) Le 3 mars 1955,

Le malade L... (Hôpital Militaire Percy) O Rh +, 76 kg, présentant un syndrome d'hypersplénisme reçoit 99 g de suspension plaquettaire marquée par le radio-chromate donnant une activité totale de 4.660.000 c/m (61,54 c/m par gramme de poids corporel). Au cours de la splénectomie (Docteur DUBAU, Docteur BOURDET), la rate a été exclue par clampage des vaisseaux 12 minutes après le début et 19 après la fin de la transfusion qui a duré 7 minutes.

La rate pesait 793 grammes. La mesure a porté sur 18 échantillons prélevés soigneusement dans le cortex, le parenchyme et au voisinage du hile. Avec un C.A.D. de 7,3 la rate a fixé au total 7,7 % de la radio-activité injectée. Elle présentait à l'examen histologique des lésions discrètes de fibro-adénie avec épaississement important des parois des sinus, et fibrose importante du réticulum. On note également de nombreux éosinophiles, et des histiocytes fortement imprégnés de pigments, en rapport avec l'infection palustre que présentait ce malade (Professeur DARBON).

Au cours de l'opération, un échantillon de sang de l'artère splénique prélevé 6 minutes après le début de la transfusion présentait un C.A.D. de 6,5, tandis qu'un échantillon de sang de la veine splénique, prélevé 2 minutes plus tard, présentait un C.A.D. de 0,7.

Les mesures sur échantillons du sang et de ses fractions (pour 1 ml de sang) étaient les suivantes (tableau XVI) :

	<i>Sang total hépariné</i>	<i>Plasma</i>	<i>Hématies lavées</i>	<i>Activité liée aux plaquettes</i>
10 minutes	390	55	60	275
2 heures	320	37	10	273
24 heures	150	15	6	129
2 ^e jour	68	9	3	56
3 ^e jour	61	2	2	57
5 ^e jour	33	7	0	26

Dans cette expérience, l'activité liée aux plaquettes a été calculée par différence.

Nous confirmons par cette expérience la décroissance rapide des activités sanguines. La rate en est-elle responsable? Chez ce malade, elle était énorme. Son caractère pathologique était confirmé par l'histologie et par la rapide amélioration clinique et hématologique après splénectomie. La nette différence dans la valeur des radio-activités entre la veine et l'artère splénique

— artère splénique (C.A.D.) :	6,5
— rate (C.A.D. moyen) :	7,3
— veine splénique (C.A.D.) :	0,5

tend à rejeter sur la rate la responsabilité de l'élimination des plaquettes marquées. Cependant, malgré une valeur relativement importante de son activité (C.A.D. = 7,3), on ne peut affirmer que la rate partage seule cette responsabilité.

L'élimination urinaire du Cr^{51} était suivie avec précision :

— 1 ^{er} jour	545.000 c/m	C.A.D. moyen : 8	% → R.A. = 11,7 %
— 2 ^e jour	341.000 »	» : 5,9	% → R.A. = 7,3 »
— 3 ^e jour	176.000 »	» : 3,7	% → R.A. = 3,8 »
— 4 ^e jour	136.000 »	» : 3,05	% → R.A. = 2,9 »
— 5 ^e jour	151.000 »	» : 3,2	% → R.A. = 3,2 »

Total : 1.348.000 c/m

En pourcentage : 29 %

En cinq jours, le malade éliminait par ses reins 29 % de la radio-activité totale injectée. Ce chiffre est très voisin de celui observé avec le P^{32} (21,7 %).

2. DANS UNE SECONDE SÉRIE D'EXPÉRIENCES (3 cas), nous avons injecté une suspension plaquettaire marquée par le radio-chromate. Les mesures d'activité ont été effectuées par voie externe et des contrôles directs ont été faits sur le sang et ses fractions, et sur l'urine.

A l'origine de ce travail, se place une demande d'investigation clinique formulée par le Professeur agrégé TUBIANA et Mlle le Docteur SCHWEISGUTH, de l'Institut Gustave-Roussy, pour le cas suivant : un nourrisson de cinq mois est porteur d'un volumineux angiome du mollet gauche. Pouvons-nous espérer traiter cet angiome par un apport massif de plaquettes sanguines, qui obtureraient les vaisseaux télangiectasiés? Le problème posé est donc de savoir si des plaquettes transfusées se localiseront dans cet angiome, et une solution technique pourrait être donnée par une exploration à l'aide du compteur à scintillations, si ces plaquettes sont marquées par le radio-chrome. Une première expérience était prévue à titre prélimi-

naire sur un autre malade, aussi bien pour déterminer les doses à injecter que les possibilités matérielles de cette exploration. La seconde expérience portait sur la petite malade, porteur de l'angiome. Forts des résultats obtenus, nous avons entrepris une troisième expérience qui a été entièrement suivie au Centre de Transfusion de l'Armée, sur un de nos malades.

a) *Première expérience* (15 décembre 1955) :

Enfant S... Geneviève, quinze ans, 53,500 kg, groupe A Rh - en observation pour tumeur cérébrale.

La suspension plaquettaire marquée pendant 10 minutes au bain-marie à $+ 37^{\circ}\text{C}$, sous un volume de 108 ml, possède une activité de 156.000 c/m par g. L'injection est pratiquée une heure après (93 g) apportant au sujet 100 milliards de plaquettes représentant 14,4 millions de coups/minute (soit environ 288 microcuries). L'efficacité du marquage est de 10,5 %. Les mesures de radio-activité sont effectuées, autant que possible, simultanément :

- sur les différents secteurs anatomiques, par voie externe à l'aide d'un compteur à scintillations (Laboratoire de l'Institut Gustave-Roussy, Professeur Agrégé M. TUBIANA);
- par mesures directes, sur le sang total, le plasma plaquettaire (centrifugation douce), le plasma déplaqueté (centrifugation prolongée), les culots des hématies lavés deux fois, (des difficultés de ponction veineuse nous ont empêchés de prélever une quantité suffisante de sang à la quarante-quatrième heure).

Les résultats sont portés sur le *graphique I*.

a) En ce qui concerne les échantillons de sang, les renseignements obtenus ont été sommaires, puisque nous n'avons pu étudier l'évolution de l'activité des fractions au-delà de 18 heures. A ce moment, on observait entre le plasma riche en plaquettes et le plasma déplaqueté une différence de 39 c/m par ml, contre 57 c/m à la vingt-septième minute.

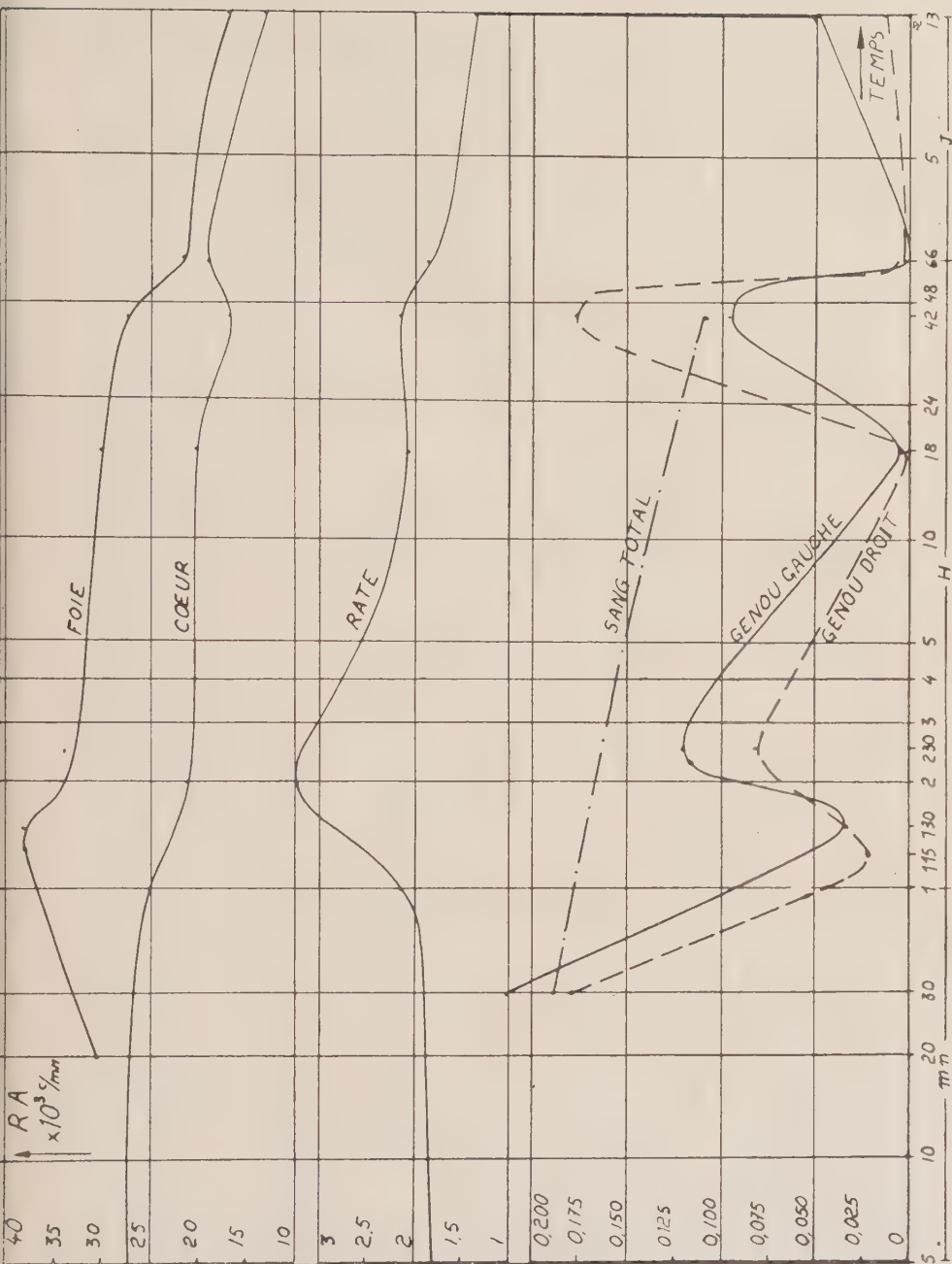
Un indice aussi fragile ne permet pas d'apprécier la durée de survie des plaquettes transfusées. L'activité des globules rouges lavés deux fois est négligeable.

b) Les mesures de surface ont donné des activités très fortes. Notons la diminution régulière de l'activité mesurée sur la région précordiale, tandis que l'activité de la région hépatique accuse un maximum vers la deuxième heure et que celle de la région splénique présente au même moment un pic dont nous nous expliquons mal la signification.

b) *Deuxième expérience* (21 décembre 1955) :

L'enfant M... Catherine, cinq mois, 5,750 kg, O Rh +.

L'enfant est porteur d'un volumineux angiome du mollet gauche. Elle reçoit par injection intraveineuse (sinus crânien) une suspension plaquettaire marquée de 8,5 g donnant 890.000 c/m (efficacité du marquage



GRAPHIQUE I : Enfant S...

Evolution avec le temps de la radioactivité (en c/mn) du sang total et des différents secteurs anatomiques du corps.

7 %). Cette dose avait été calculée sur les bases de l'opération précédente pour permettre d'obtenir une activité appréciable dans les mesures opérées par voie externe.

- Aucun prélèvement de sang n'a été effectué.
- Les chiffres relevés ont été les suivants :
- pour le foie (hypochondre droit) : activité de l'ordre de 8.000 c/m, de la 20^e minute jusqu'à la 24^e heure après l'injection. Chute à 4.000 c/m le surlendemain (48^e heure), puis lente réascension jusqu'à 5.300 c/m le 26 décembre, soit cinq jours après l'injection. Nouvelle chute le 28 décembre à 3.450 c/m (7^e jour);
- pour la rate (hypochondre gauche) : 3.800 c/m après 20 minutes et 2 heures. 4.500 c/m après 24 heures. 2.300 c/m après 48 heures. Nouveau pic à 5.000 c/m le 26 décembre, avec nouvelle chute le 28 décembre;
- l'activité du cœur (région précordiale) dessine sensiblement un plateau : 850 à 920 c/m;
- quant au mollet gauche, siège de l'angiome, son activité apparente (sur 7 mesures) dépasse 6 fois celle du mollet droit qui est normal. Elle est peu importante en moyenne : 500 à 380 c/m contre 185 à 77 c/m pour le mollet droit.

Nous ne nous expliquons pas la baisse d'activité apparente du foie et de la rate au deuxième jour, ni sa réascension spontanée au cinquième jour.

En ce qui concerne l'objet de notre investigation clinique, il existe une fixation indiscutablement plus importante sur le mollet gauche porteur de l'angiome que sur le mollet droit; mais cette fixation reste très modeste, vis-à-vis de la fixation sur le foie ou sur la rate; elle est probablement en rapport avec le volume circulatoire, toujours augmenté au niveau d'un angiome et elle paraît insuffisante pour apporter la preuve que des thrombus plaquettaires se forment dans l'angiome.

c) *Troisième expérience :*

Malade G..., vingt-trois ans, atteint de pancytopénie, et splénectomisé vingt mois auparavant.

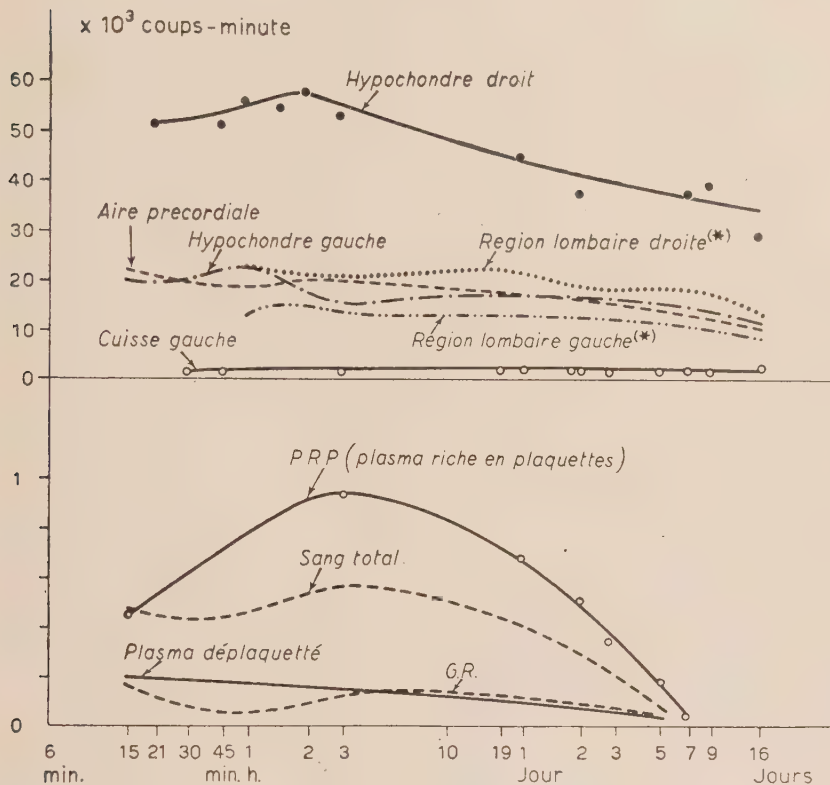
Le *graphique II* traduit les résultats obtenus sur les secteurs anatomiques (partie supérieure) et sur le sang et ses fractions (partie inférieure).

Le fait saillant est la *forte activité de l'hypochondre droit* (région hépatique). Elle est si importante qu'elle rend difficile l'appréciation précise des activités des organes voisins, ce qui explique très vraisemblablement la différence constante entre les activités des régions lombaires droite et gauche. L'activité de la région hépatique présente un maximum vers la deuxième heure, puis décroît lentement, compte tenu de la décroissance du radiochrome. Après seize jours, le foie conserve

la moitié de son activité apparente initiale. Il est difficile d'affirmer si l'activité du foie correspond à un stockage des plaquettes ou du radiochrome libéré par la lyse de ces plaquettes.

Les urines ont été recueillies. En cinq jours, elles ont éliminé 30,2 % de l'activité totale.

GRAPHIQUE II



(*) Projection postérieure

Répartition de l'activité en fonction du temps

Partie supérieure : activité apparente localisée par le compteur à scintillations

Partie inférieure : activité du sang et de ses fractions

L'étude des autres secteurs anatomiques ne nous a pas apporté d'éléments dignes d'être retenus.

En outre, nous avons effectué parallèlement les mesures sur des échantillons de sang héparinés, prélevés à intervalles choisis. Les mesures portaient sur le sang total, sur les globules rouges séparés et lavés, sur

le plasma riche en plaquettes et sur le plasma déplaqueté. Des conclusions intéressantes peuvent être tirées de ces mesures.

— La différence des radio-activités entre le plasma riche en plaquettes et le plasma déplaqueté exprime assez fidèlement l'activité liée aux plaquettes. Le pincement des deux courbes ne s'opère qu'au-delà du cinquième jour. Ce qui nous fournit une indication précieuse sur la survie des plaquettes marquées.

— Le maximum d'activité du sang total s'observe à la troisième heure. Nous rejoignons là les constatations de STEFANINI [30], basées sur la simple numération des plaquettes du receveur, et celles de REISNER et d'AAS et GARDNER [21]. Ces données semblent confirmer l'hypothèse d'une séquestration temporaire des plaquettes transfusées. L'organe responsable de cette séquestration ne saurait être la rate chez notre malade. Ce n'est pas non plus le foie : son activité demeurant importante tout au long de l'expérience. Le rôle du poumon, suggéré par BIERMAN [31], semble vraisemblable.

Il est intéressant de noter que nous n'avons pas mis en évidence d'anticorps antiplaquetaires dans le sang périphérique de ce malade. Nous verrons, lors des discussions, la portée de cette constatation.

Les données de l'expérimentation humaine sont incomplètes. Nous entrevoyons, pour l'avenir, la possibilité d'apprécier la répartition de l'activité entre les différents organes et son évolution avec le temps, dans d'autres expériences.

Nous ne pouvons encore indiquer comment se comportent les plaquettes transfusées chez l'homme normal et chez le malade. Des études comparatives seront nécessaires.

Dans l'immédiat, avec l'expérimentation animale que nous allons maintenant aborder, nous disposons d'arguments précieux.

II. — CHEZ L'ANIMAL

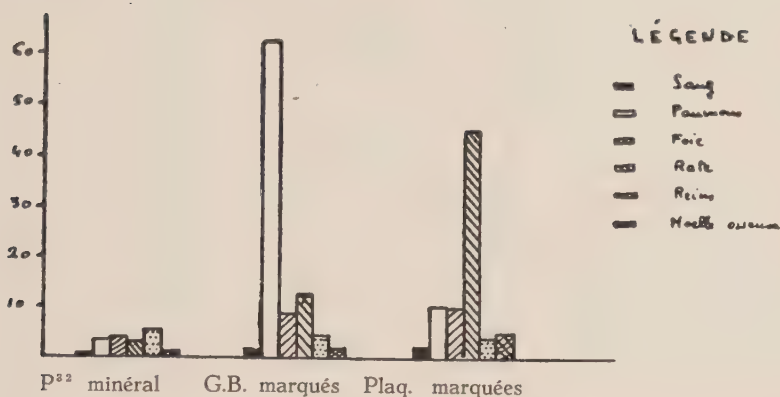
A) CHOIX DE L'ANIMAL ET DES CONDITIONS HORAIRES

La plus grande partie de nos expériences a été réalisée sur le lapin : animal peu coûteux, d'élevage facile, il présente en outre l'avantage de se prêter facilement à l'injection intra-veineuse et aux vérifications anatomiques.

Cependant, nous avons également utilisé le chien, le cobaye, la souris, pour étendre le champ de nos investigations.

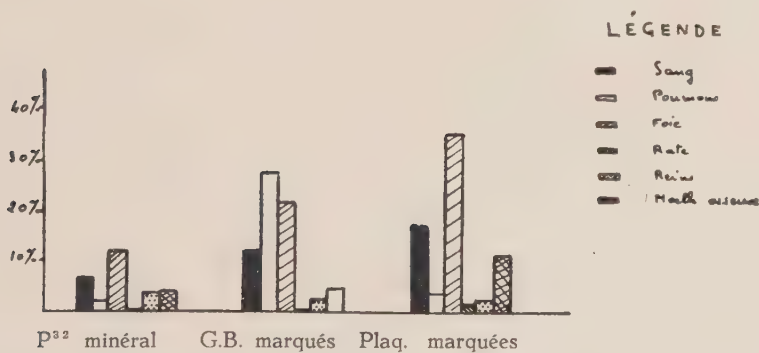
Ces animaux sont sacrifiés après des délais variables, mais toujours comparables, d'une expérience à l'autre : 20 minutes, 1 heure, 2 heures, 24 heures, 48 heures, 72 heures.

GRAPHIQUE III



C.A.D. ou coefficient d'absorption différentiel
(lapins sacrifiés 20 minutes après l'injection)

GRAPHIQUE IV



Radioactivité par organe en pourcentage de la radioactivité injectée

Le délai le plus couramment respecté a été celui de 20 mn, parce que c'est lui qui met le plus clairement en évidence les phénomènes essentiels. En effet, dans un délai plus court, la répartition risquerait de ne pas être homogène; dans un délai plus long, l'activité du sang risquerait d'être trop faible.

Nous avons choisi délibérément d'injecter aux lapins des plaquettes humaines, parce que ce matériel biologique nous est familier et qu'il est facile d'en disposer dans un Centre de Transfusion après la séparation du plasma.

B) REPARTITION CHEZ LE LAPIN NORMAL

1. ANIMAL SACRIFIÉ APRÈS VINGT MINUTES.

L'importance de notre dossier nous permet de faire ressortir une évolution du destin des plaquettes transfusées suivant les conditions de l'horaire du sacrifice. Nous examinerons d'abord les résultats fournis par le sacrifice après un délai de 20 mn comparant P^{32} , Cr^{51} , Au^{198} .

1) *Plaquettes marquées par le P^{32} :*

Ces résultats ont déjà été publiés. Nous rappelons que, sur 7 expériences, le C.A.D. moyen de la rate est de 45,5 avec un chiffre maximum de 137, de 10,5 pour les poumons, 10,2 pour le foie, 5 pour la moelle osseuse (*graphique III*).

En valeur absolue, c'est le foie qui arrête le maximum de plaquettes marquées. On retrouve en effet dans cet organe 36 % de la radio-activité injectée. Le sang conserve environ 18 % de cette valeur, tandis que la moelle osseuse en fixe 12 %. La rate, en raison de son faible poids, ne répond que de 2 % de la quantité totale (*graphique IV*).

Les deux graphiques que nous donnons en référence permettent de comparer la répartition du P^{32} injecté à l'état de solution et des leucocytes marqués par le P^{32} chez des lapins sacrifiés dans les mêmes conditions.

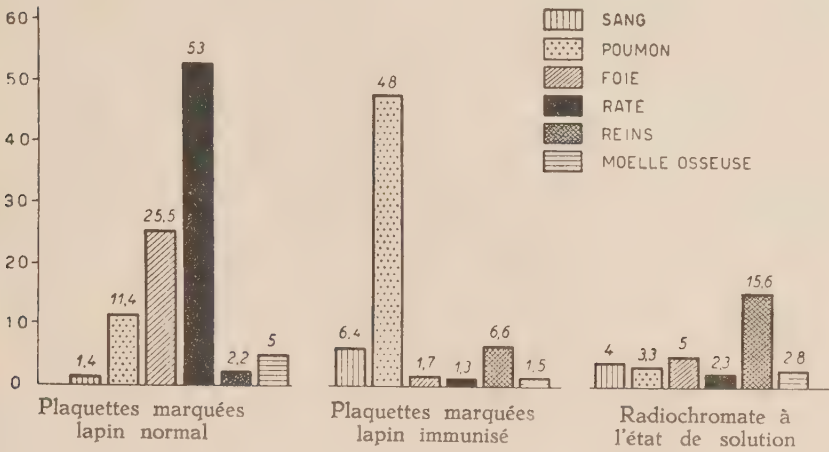
2) *Plaquettes marquées par le Cr^{51} :*

Ces expériences sont plus récentes. Nous avons participé personnellement à un grand nombre d'entre elles. Les conditions techniques ayant fait l'objet d'un chapitre précédent, nous nous contenterons d'énumérer les résultats. Les chiffres détaillés sont donnés dans les *graphiques V et VI*.

Nous notons, comme dans le cas des plaquettes marquées par le P^{32} , une affinité majeure pour la rate (C.A.D. moyen = 57), alors que le foie retient à lui seul près de 80 % de l'activité injectée. La moyenne porte cette fois sur un grand nombre d'animaux, 18 lapins sacrifiés au cours de 14 expériences différentes. Il nous faut remarquer que la somme totale des activités dépasse

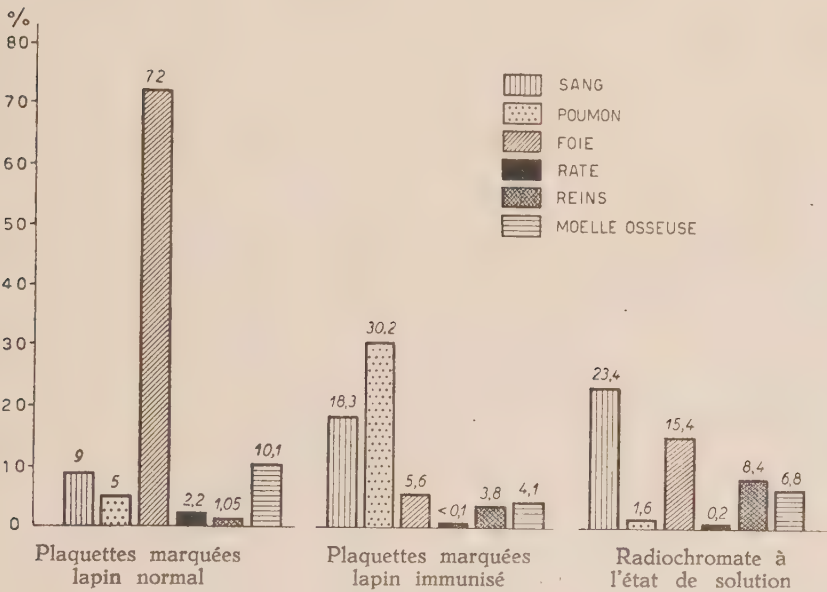
GRAPHIQUE V

Coefficient d'absorption différentiel 20 minutes après l'injection (*)



GRAPHIQUE VI

Pourcentage de l'activité totale 20 minutes après l'injection (*)



(*) Graphiques empruntés à B. MAUPIN [24c].

Les valeurs publiées ci-dessus, portant sur 14 animaux, sont peu différentes de celles que nous avons trouvées sur 18 animaux.

100 %. Il s'agit là d'une cause d'erreur constante dont nous n'avons pu déceler l'origine.

3) Plaquettes marquées par l'or colloïdal radio-actif :

La fixation par la rate est plus irrégulière puisque nous trouvons chez 4 lapins injectés des valeurs variant de 8,25 à 91 (C.A.D. moyen = 41,4). La fixation par le foie est plus importante que dans les deux cas précédents. Les activités du sang et des reins sont très faibles (*tableau XVII*).

	C.A.D.	totale % de R.A.
Sang	0,58	3,6
Poumons	12,1	5,3
Foie	30	97
Rate	41,4	2
Reins	0,37	0,21
Moelle osseuse	5,1	11,6

Pour faire une comparaison utile entre ces différentes valeurs, il était nécessaire de connaître la distribution de l'isotope lui-même. C'est pour cette raison que nous avons pratiqué des *injections de solutions marquantes à l'état inorganique*.

— A l'état inorganique, le P^{32} se fixe surtout dans le foie (C.A.D. moyen = 4,1; pourcentage de radio-activité injectée : 12,5 %). Les autres organes possèdent une activité minime (cf. *graphiques III et IV*).

— Dans les mêmes conditions, le foie retient une proportion comparable de radio-chromate, mais les activités du sang et des reins sont relativement plus fortes (cf. *graphiques V et VI*).

— En ce qui concerne l'or colloïdal Au^{198} , injecté à l'état inorganique, il nous donne des résultats frappants en ce qui concerne la fixation par le foie, la rate et la moelle osseuse.

Moyenne sur 3 lapins (*tableau XVIII*) :

	C.A.D.	% de R.A.
Sang	0,08	1,3
Poumons	7,3	0,71
Foie	37,3	106
Rate	4,3	0,95
Reins	0,52	0,36
Moelle	4,6	13

avec encore un chiffre paradoxal par excès en ce qui concerne les activités totales (cf. *tableau XVIII*).

Il ressort de cette comparaison :

- que le Cr^{51} et le P^{32} sont rapidement éliminés par les reins ou se localisent dans les organes ou tissus autres que ceux prélevés : le radio-isotope inorganique éventuellement libéré n'a pas la même distribution que les plaquettes marquées et n'entre donc pas en compétition avec elles;
- que l'or colloïdal, en revanche, se fixe électivement sur le foie, la rate, la moelle osseuse, en somme tous éléments du système réticulo-endothélial, vis-à-vis desquels les plaquettes manifestent une grande affinité.

2. EVOLUTION DE LA RÉPARTITION AVEC LE TEMPS.

1) *Plaquettes marquées par le P^{32} :*

Chez deux lapins ayant succombé rapidement (5 à 10 minutes), les activités du sang et du cœur et, dans un cas, celles des échantillons de poumon, sont très élevées : ce qui indique une répartition non homogène.

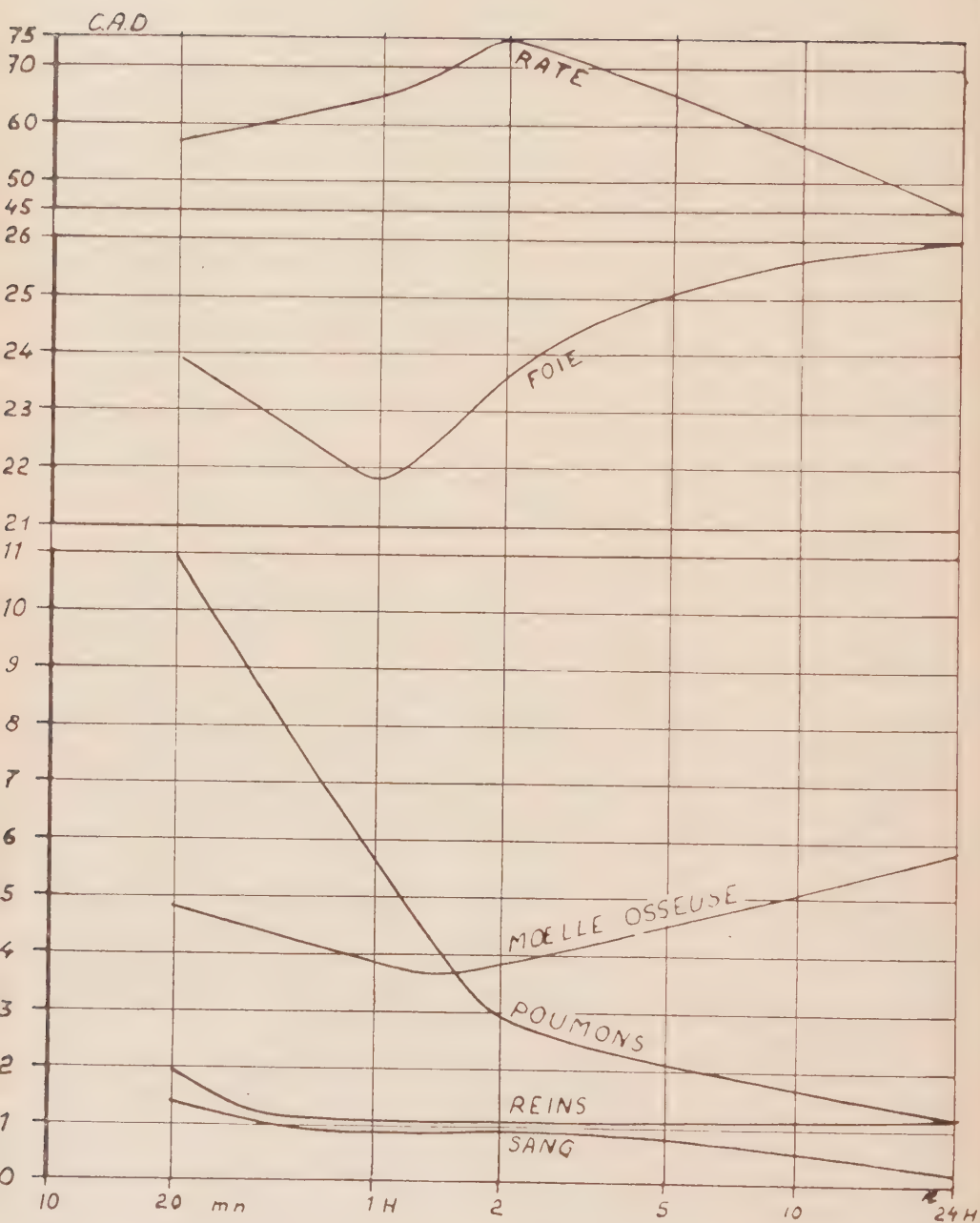
Au-delà de 20 mn et au-delà de 2 heures, chez 5 animaux, l'activité de la rate apparaît plus faible que chez les lapins sacrifiés après 20 mn (C.A.D. moyen 35). Après 24 heures, chez 2 animaux, le C.A.D. de la rate tombe à 5,7. L'activité du foie se maintient à 11 entre 2 mn et 2 heures, elle tombe à 3,3 après 24 heures. Ce résultat avait surpris les auteurs qui s'attendaient à une accumulation croissante des plaquettes dans ces organes d'arrêt, mais il est probable que les plaquettes marquées par le P^{32} dans les conditions de l'expérience perdent rapidement leur activité spécifique par libération de l'isotope. Dès lors, l'extrapolation dans le temps est sans valeur [9].

2) *Plaquettes marquées par le Cr^{51} :*

Aux résultats concernant 18 animaux sacrifiés après 20 mn, nous ajoutons les données suivantes :

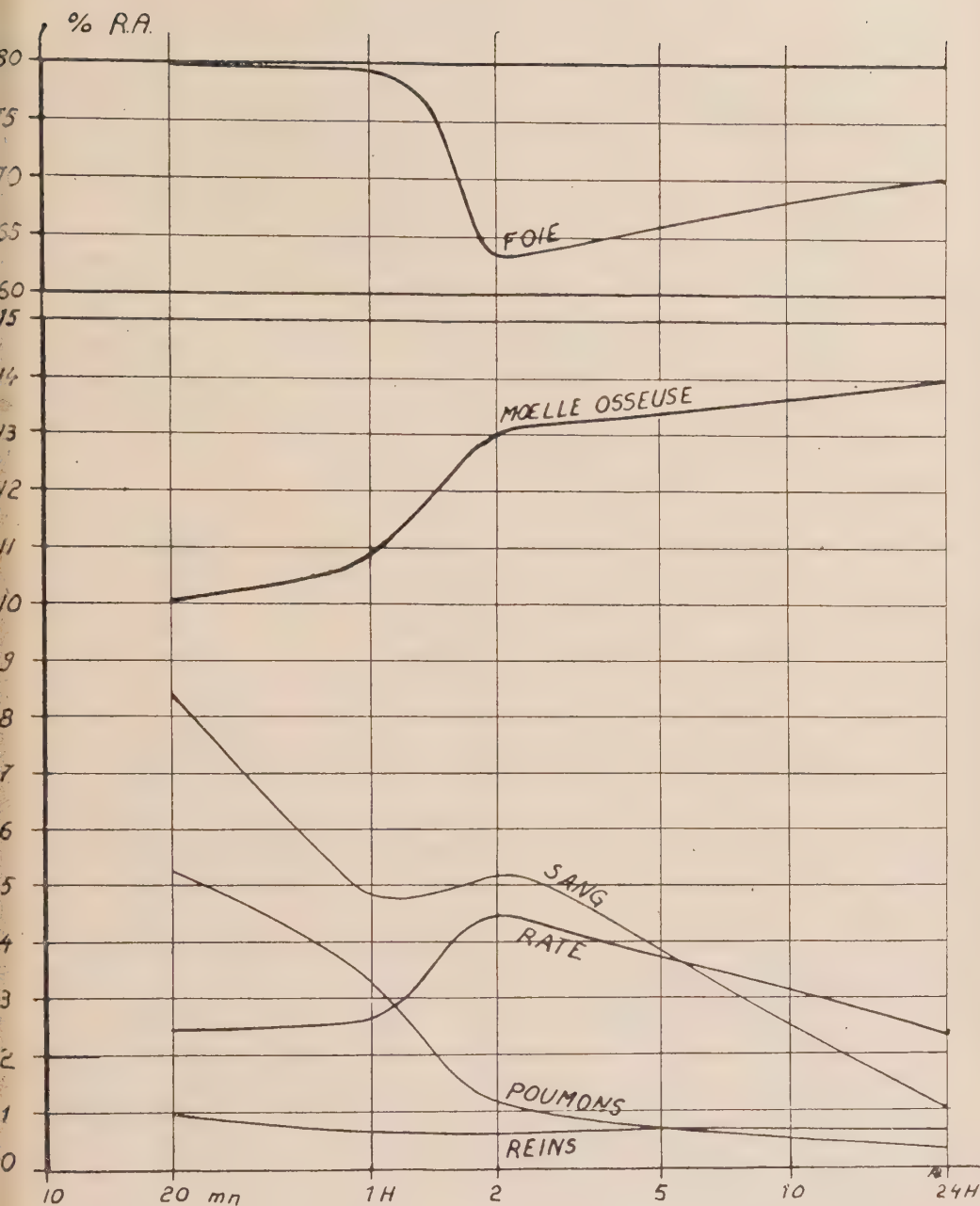
- 5 animaux sacrifiés après 1 heure
- 6 » » » 2 heures
- 6 » » » 24 heures

Il nous a paru intéressant d'exprimer ces résultats dans un tableau comparatif et de porter, à l'aide de courbes, l'évolution de la distribution des éléments marqués, avec le temps (cf. *tableau XIX* et *graphiques VII* et *VIII*).



GRAPHIQUE VII

Evolution avec le temps du coefficient d'absorption différentiel (C.A.D.) des organes du lapin (plaquettes marquées par le radio-chromate)



GRAPHIQUE VIII

Répartition dans le temps du pourcentage de la radioactivité totale injectée chez le lapin (plaquettes marquées par le radio-chromate)

TABLEAU XIX

Valeurs moyennes du C.A.D. et du % R.A. des organes, aux différents temps de l'expérience. Lapins ayant reçu une suspension plaquettaire marquée par le Cr^{51} .

	Après 20 mn	Après 1 h	Après 2 h	Après 24 h
C.A.D.				
Sang	1,31	0,87	0,93	0,18
Poumons	10,92	5,87	2,95	1,20
Foie	23,90	21,8	23,5	26
Rate	57,03	65	75,3	45
Reins	1,98	1,1	1,1	1,2
Moelle osseuse ...	4,80	3,97	3,8	5,8
% R. A. :				
Sang	8,47	4,88	5,2	1,02
Poumons	5,25	3,35	1,1	0,35
Foie	80	79,5	63,5	70
Rate	2,43	2,7	4,5	2,4
Reins	0,96	0,64	0,65	0,70
Moelle osseuse ...	10,02	10,89	13	14
Nombre d'anim. .	18	5	6	6

En ce qui concerne l'activité du sang, nous remarquons qu'elle décroît assez rapidement avec une réascension discrète à la deuxième heure. Ce phénomène correspond peut-être à un effet de séquestration.

L'activité des reins baisse entre 20 mn et 1 heure, puis on observe un plateau jusqu'à 24 heures.

L'activité du poumon décroît très vite.

Celle du foie décroît jusqu'à la deuxième heure, puis elle se modifie peu.

La rate s'enrichit entre 20 mn et 2 heures, puis s'appauvrit au cours des 24 heures suivantes, alors que la moelle osseuse s'enrichit progressivement.

3) Plaquettes marquées par l'or colloïdal :

Impressionnés par la stabilité de la fixation de l'or colloïdal sur les plaquettes, nous avons prolongé nos investigations jusqu'à un délai de trois jours (tableau XX).

L'activité du sang décroît rapidement jusqu'à devenir négligeable; de même celle des reins et des poumons; le foie est toujours l'organe le plus actif avec des valeurs apparentes atteignant 80 % de la radio-activité totale.

La moelle osseuse paraît s'enrichir progressivement. Cet accroissement d'activité est encore plus sensible pour la rate, mais il ne peut être attribué aux seules plaquettes puisque nous savons que l'or colloïdal se fixe électivement sur cet organe. Notons néanmoins que le C.A.D. moyen de la rate est de 54 chez les lapins sacrifiés 24 heures après l'injection de plaquettes marquées, alors qu'il a été trouvé de 12,8 chez un animal ayant reçu l'or colloïdal inorganique et sacrifié dans le même délai.

TABLEAU XX

Valeurs moyennes du C.A.D. et du % R.A. aux différents temps de l'expérience, des organes de lapins ayant reçu une suspension plaquettaire marquée par l'Au¹⁹⁹.

	20 mn	1 h	2 h	24 h	72 h
C.A.D.					
Sang	0,52	0,59	0,11	0,08	0,06
Poumons	12,1	4,3	5,75	3,1	1,15
Foie	30	21	23,5	33,8	36,2
Rate	41,4	34	31,5	54	91
Reins	0,37	0,22	0,17	0,21	0,30
Moelle osseuse ..	5,1	7,3	6,5	7,1	8,6
% R. A.					
Sang	3,6	3,3	0,62	0,4	0,36
Poumons	5,3	1,84	2,9	1,3	0,43
Foie	97	80,5	79,5	81	81
Rate	2	1,8	2,05	3,2	4,14
Reins	0,21	0,15	0,06	0,12	0,13
Moelle osseuse ..	11,6	16	14	15,1	19
Nombre d'animaux	3	2	2	4	2

C) REPARTITION DES PLAQUETTES MARQUEES CHEZ LE LAPIN APRES MODIFICATION DES CONDITIONS EXPERIMENTALES

Nous avons tout spécialement étudié le devenir des plaquettes chez le lapin immunisé.

1. LAPINS IMMUNISÉS.

La technique d'immunisation consiste en deux injections intraveineuses par semaine pendant trois semaines d'une quantité totale de 20 milliards de plaquettes humaines fraîches, ou sortant du congélateur (-20°C). Cette quantité de plaquettes correspond, d'après les calculs de B. MAUPIN [1], à 16 mg de protéines. Huit à dix jours après la dernière injection, on pratique une saignée et on mesure la teneur sanguine en agglutinines. Cette mesure est faite par une méthode d'agglutination directe, soit en tube de verre, soit sur lame de Kline, avec agitation pendant une demi-heure en glacière, suivant la méthode de Dausset. Nous ne retenons que les animaux dont le taux d'agglutination est supérieur à $1/160^{\circ}$, quelquefois $1/640^{\circ}$ et $1/1.280^{\circ}$.

Les animaux sont utilisés les jours suivants.

Il convenait de se mettre à l'abri d'un choc anaphylactique et nous nous sommes bien trouvés d'ajouter, à la suspension plaquettaire marquée à injecter, 0,20 g de novocaïne à 1 % pour 5 ml de suspension contenant 3 à 5 millions de plaquettes par mm^3 . Il n'était cependant pas rare d'observer des accidents de choc mineurs tels que : dyspnée, inquiétude de l'animal...

1) *Injection par une suspension plaquettaire marquée au radiochromate :*

a) 20 mn après l'injection, 6 lapins ont été sacrifiés. Les résultats sont surprenants. Le foie, la rate, la moelle osseuse n'ont pour ainsi dire reçu aucune plaquette. Par contre, la radioactivité du poumon, témoin d'une fixation plaquettaire, est considérable et constante. (C.A.D. moyen = 55, avec $28,5\%$ de l'activité totale injectée) (Cf. *graphiques V et VI*.)

Ce résultat est curieusement superposable à celui que donne chez le lapin normal l'injection des leucocytes marqués. (*Thèse PERRAULT, Paris, 1957*.)

L'activité du sang total (15 %) et celle des reins (4 %) est nettement plus importante que les activités correspondantes chez le lapin normal.

A l'agglutination dans les poumons, se superpose donc vraisemblablement une lyse des plaquettes dans la circulation avec libération du Cr^{51} à l'état minéral.

Les résultats sont les suivants (moyenne sur 6 animaux) (tableau XXI) :

TABLEAU XXI

	C.A.D. moyen	% de R.A. injectée
Sang total	3,76	15 %
Poumons	55,5	28,4 %
Foie	2,8	9,6 %
Rate	15,5	0,19%
Reins	6,6	4 %
Moelle osseuse ..	1,65	2,4 %

b) Une heure après l'injection :

Les valeurs de la radio-activité des poumons sont en baisse légère : C.A.D. moyen : 40,3 - 20,6 % de R.A. injectée. Les activités des autres organes n'ont pas varié.

c) Deux heures après l'injection : la décroissance de l'activité pulmonaire s'affirme (C.A.D. : 17,7, soit 8,7 % de l'activité injectée). Alors que le sang et les reins gardent des valeurs toujours fortes (respectivement 13 et 4 % de la radio-activité injectée), l'activité du foie jusqu'alors étonnamment faible (9 %) amorce une légère ascension (13 %).

d) A la vingt-quatrième heure, les poumons ont perdu presque toute leur radio-activité (C.A.D. moyen : 5, soit 2,5 % de l'activité totale), alors que les valeurs des activités du foie et de la rate ont légèrement remonté, tout en restant faibles (foie : C.A.D. moyen 3,6; rate : C.A.D. moyen : 12,2). L'activité du sang a légèrement baissé (7 %).

2) Injection par une suspension plaquettaire marquée par l'or colloïdal radio-actif Au¹⁹⁸ :

C'est naturellement aux plaquettes marquées par cet isotope que nous demanderons confirmation des observations précédentes, connaissant l'étonnante stabilité du marquage à la vingt-quatrième heure. Nos résultats, encore partiels, se rapportent à un nombre encore peu important d'animaux.

Nos espoirs ne sont pas déçus. Bien qu'il ne faille pas attribuer à nos chiffres une trop rigoureuse valeur, ceux-ci sont cependant très évocateurs :

— Après 20 mn (2 animaux) :

Les poumons présentent une activité considérable : C.A.D. moyen = 112, soit 64 % de l'activité de départ. Celles du sang, de la rate, des reins et de la moelle osseuse, sont minimales. Le foie présente une activité modérée (C.A.D. moyen : 11,8, 32 % de l'activité), en tout cas bien inférieure à celle observée chez le lapin normal (97 %).

La décroissance de radio-activité des poumons s'observe, là encore, mais elle est moins brutale, puisqu'à la vingt-quatrième heure ces organes conservent un C.A.D. moyen de 31,5 (19 % de la R.A.); à la soixante-douzième heure, la radio-activité pulmonaire a disparu (C.A.D. = 6) (13,3 % de la radio-activité initiale).

Comme dans le cas précédent (Cr^{51}), les activités du foie et de la rate subissent une remontée effective à la vingt-quatrième heure; elle est encore plus apparente à la soixante-douzième heure (*tableau XXII*).

TABLEAU XXII

Poumons	C.A.D.			% R.A. injectée		
	Foie	Rate		Poumons	Foie	Rate
112	11,8	4	20 mn (2 animaux)	64	32	0,2
31,5	23,6	50	24 h (2 animaux)	19	71	4,4
13,5	27	109	72 h (1 animal)	6	72	7,1

Les activités du sang total et du rein sont régulièrement décroissantes.

Intéressante à noter est l'activité importante (C.A.D. = 5,12; 15,4 % de l'activité totale) que présente la moelle osseuse de l'animal sacrifié à la soixante-douzième heure.

Tout se passe donc comme si, un moment séquestrées par les poumons, les plaquettes étaient relâchées lentement dans la circulation, se fixant à nouveau sur le foie, la rate et la moelle osseuse, comme sur leurs pôles attractifs.

Chez 4 lapins normaux, nous avons étudié, après 20 mn, la répartition de plaquettes « sensibilisées ». Cette sensibilisation est obtenue par contact, à la température du laboratoire, de 1 ml de suspension plaquettaire (3 à 5 millions de plaquettes par mm^3) avec 0,1 ml d'un immun-sérum de lapin anti-plaquettes humaines titrant par exemple 1/320°. Une quantité supé-

rieure de ce sérum provoquerait la lyse immédiate d'un grand nombre de plaquettes. Le contact est maintenu pendant 3 mn au minimum, 6 mn au maximum. Sa durée exacte est toujours notée.

Nous pouvons faire quelques constatations intéressantes. Si les activités du sang, des reins et de la moelle osseuse sont peu modifiées par rapport à l'animal normal, nous notons quelques différences significatives portant sur les radio-activités du foie, de la rate et des poumons. Le foie et la rate, tout en gardant des activités non négligeables (respectivement C.A.D. moyen = 17, soit 55 % de la radio-activité initiale pour le foie, et C.A.D. = 32, soit 1 % pour la rate) fixent moins, alors que les poumons, sans atteindre les valeurs d'activité du lapin immunisé, fixent plus que le lapin normal : C.A.D. = 22,3, soit % RA = 9.

TABLEAU XXIII

	Poumons		Foie		Rate	
	C.A.D.	% R.A.	C.A.D.	% R.A.	C.A.D.	% R.A.
Lapin normal ...	10,9	5	24	80	57	2,4
Lapin recevant des plaquettes sensibilisées ...	22,3	9	17,25	55	32,12	1,3
Lapin immunisé . .	112	64	11,8	32	4	0,2

Les résultats des activités sont intermédiaires entre ceux du lapin normal et ceux du lapin immunisé. Ils semblent opérer une transition entre ces deux états (*tableau XXIII*).

2. LAPINS IRRADIÉS.

L'irradiation de 2 de nos lapins a été conduite par le Docteur DUPLAN, de la Fondation Curie.

Dans le cadre des nombreux phénomènes provoqués dans l'organisme par l'irradiation, l'effet que nous recherchions était la thrombopénie. Elle était très nette chez nos 2 lapins, 9 jours après l'administration d'une dose léthale. Ils reçurent une suspension de plaquettes marquées par le radio-chromate. Le sacrifice eut lieu 20 mn plus tard. Les résultats furent les suivants :

— Poumons, reins et sang fixent peu de plaquettes marquées.

— Le foie fixe, par contre, 98 % de la radio-activité totale (C.A.D. moyen = 33,7).

— Les valeurs d'activité de la rate sont très discordantes : dans un cas, avec un C.A.D. de 298, nous obtenons le chiffre record pour l'affinité de cet organe; dans l'autre cas, avec un C.A.D. de 8,2, l'inverse est réalisé.

— La moelle osseuse fixe une partie assez importante de l'activité (C.A.D. = 5,8; % RA = 13).

Ces essais sur le lapin irradié sont trop peu nombreux pour que nous puissions en tirer des conclusions formelles. Cependant, comparant nos résultats avec ceux obtenus par ROBERTSON, MILNE et COHN (14), sur des rats irradiés ayant reçu une suspension de plaquettes *homologues marquées* par le Cr^{51} , nous retiendrons la forte activité du foie, après 20 mn. Mais ce n'est pas là un phénomène nouveau.

3. LAPINS A SYSTÈME RÉTICULO-ENDOTHÉLIAL BLOQUÉ.

Nous devons immédiatement révéler le caractère décevant de cette expérience qui a porté sur 2 animaux seulement. Deux lapins reçoivent, 6 mn avant l'injection d'une suspension plaquettaire marquée par le Cr^{51} , 1 ml d'or colloïdal (3.500 gammas), par voie intraveineuse. Nous pensons que ce métal, à l'état colloïdal, saturerait le système réticulo-endothélial et modifierait la localisation des plaquettes.

La répartition des activités, 20 mn après l'injection, est très voisine de celle du lapin normal. Foie, rate et moelle osseuse fixent les plaquettes dans d'analogues proportions (*tableau XXIV*) :

TABLEAU XXIV

	C.A.D. moyen	% R.A.
Foie	20,5	75 %
Rate	60	2,5 %
Moelle osseuse ..	3,25	7 %
Poumons	3,1	0,70 %

Nous ne pouvons donc tirer aucune conclusion de cette expérience. Mais elle mérite d'être reprise en utilisant d'autres produits susceptibles de bloquer le système réticulo-endothélial (carbone colloïdal, carmin), et en modifiant les délais entre l'injection du produit bloquant et celle des plaquettes marquées.

4. AUTRES ESPÈCES ANIMALES.

Il nous a paru intéressant de rechercher le devenir des plaquettes humaines marquées, injectées à d'autres animaux que le lapin. Nous avons choisi, selon nos possibilités d'expérience, le chien, la souris, le rat, le cobaye.

1) *Injection au chien de plaquettes humaines marquées :*

a) *après marquage par le P^{32}* : un chien sacrifié après 20 mn présente une activité importante du foie (C.A.D. 9,65; pourcentage de l'activité injectée : 30,2 %).

L'activité de la rate est relativement faible (C.A.D. 5,5; pourcentage : 1,65 %).

b) *après marquage par le Cr^{51}* : 3 chiens ont été injectés puis sacrifiés dans un délai de 20 mn (*tableau XXV*) :

TABLEAU XXV

	C.A.D. moyen	% de R.A. injectée
Sang total.....	3,4	27
Poumon.....	3,4	2,9
Foie	10	34
Rate	10,4	3
Rein	6	4
Moelle osseuse	2	3,8

L'activité du foie demeure importante chez 2 autres chiens sacrifiés respectivement après 1 heure (C.A.D. 10,7; R.A. : 38 %) et après 24 heures (C.A.D. 10; R.A. : 40 %). Celle de la rate n'augmente pas avec le temps (respectivement 2,15 et 2,4 % de l'activité totale injectée), l'activité de la moelle osseuse s'accroît légèrement (3,7 et 5,5 %).

2) *Injection à la souris :*

a) *après marquage par le P^{32}* , les plaquettes se localisent dans le foie (C.A.D. 13,4; R. A. : 89 %), le poumon (7,8 et 9,1 %) et la rate (4,3 et 7,4 %) lorsque l'animal est sacrifié dans un délai de 20 minutes.

b) après marquage par le Cr^{51} , les résultats sont du même ordre pour un délai de 20 minutes.

L'activité du foie est la seule importante lorsque l'animal est sacrifié après 24 heures.

La moelle osseuse n'a été prélevée dans aucune de ces expériences.

3) *Injection au rat :*

Deux animaux ont été sacrifiés 20 mn après l'injection de plaquettes marquées par le Cr^{51} . Les valeurs obtenues sont trop faibles pour nous permettre de conclure.

4) *Injection au cobaye* (plaquettes marquées par le Cr^{51} , sacrifice après 20 mn) : on note une activité importante de la rate (C.A.D. 18,7; R.A. : 2,3 %) et du foie (C.A.D. 9,8; R.A. : 39 %).

Chez un animal sacrifié après 24 heures, le foie a retenu 62 % et la rate 4,5 % de l'activité injectée.

La moelle osseuse n'a pas été prélevée.

En conclusion de ces quelques essais pratiqués à titre de sondage, nous sommes autorisés à retenir une affinité des organes du S.R.E. à l'égard des plaquettes étrangères, avec quelques nuances, selon l'espèce animale réceptrice : chez le chien, dans le délai de 20 mn, le pouvoir d'arrêt du foie est prédominant; chez la souris et le cobaye, la sélectivité maxima s'inscrit à l'actif de la rate, tandis que le foie, moins sélectif, retient néanmoins, en raison de la masse, un pourcentage très important.

Ces derniers résultats se rapprochent de ceux observés sur le lapin. Nous serions tentés d'opposer, d'après le destin des plaquettes injectées, les rongeurs (lapin, souris, cobaye), dont la rate est plus sélective que le foie, et les carnivores tels que le chien, dont la rate est moins sélective. Mais nous devons tenir compte de la différence du poids relatif de la rate suivant les espèces animales : par exemple 0,05 à 1 % du poids du corps chez le lapin, 0,36 % chez le chien.

De toute façon, il s'agit bien d'une affinité du système réticulo-endothélial pour les plaquettes elles-mêmes et non pour le traceur.

CHAPITRE III

Discussion et applications

Les expériences relatées vont permettre d'éclairer le choix du radio-isotope idéal pour le marquage des plaquettes. Ce choix sera fonction de l'efficacité, et surtout du mode de fixation de l'isotope.

Nous pourrons ensuite envisager de formuler quelques conclusions sur le devenir réel des plaquettes transfusées à l'animal et à l'homme, et de tirer quelques explications cliniques.

I. — LE CHOIX DE L'ISOTOPE

Compte tenu de la distribution dans l'organisme du radio-isotope à l'état inorganique, nous pensons pouvoir admettre que l'activité retrouvée dans les organes, quelque 20 mn à 1 heure après l'injection, correspond aux plaquettes. En conséquence, nous sommes autorisés à rapporter aux seules plaquettes les activités mesurées dans tel ou tel organe.

Par son affinité pour le système réticulo-endothélial, l'or colloïdal entre en compétition avec les plaquettes, mais, comme nous l'avons vu, ce marquage est très stable et, s'il n'y a pas lyse plaquettaire, les résultats sont encore valables, après un délai de 24 heures.

Dans ces conditions, une forte activité décelée dans un organe signifie : fixation plaquettaire.

Au-delà de 24 heures, il est plus difficile de tirer des conclusions formelles : avec le P^{32} , une forte proportion de ce radio-isotope quitte les plaquettes ; il en est de même avec le Cr^{51} (30 %). Les conclusions devront donc être plus nuancées. Seuls,

les résultats obtenus avec le marquage par l'or colloïdal radioactif semblent devoir résister à la critique. Dans des expériences de longue durée, c'est le marquage de choix.

II. — MODE DE FIXATION DU RADIO-ISOTOPE SUR LES PLAQUETTES

Les quelques sondages effectués nous font penser que le mode de fixation diffère selon l'isotope considéré.

a) AVEC LE RADIO-PHOSPHORE P^{32} .

Nous n'avons pas constaté une incorporation dans les fraction protéique et lipidique, comme l'ont observée MUELLER [9] et FERRINI [27] après, il est vrai, une incubation de 14 à 18 heures. Nous n'avons pas à rechercher une incorporation dans les fractions nucléiques, pratiquement inexistantes dans les plaquettes. Dans nos expériences, la fixation du P^{32} sur la fraction acido-soluble des plaquettes rendait compte des échanges avec le milieu et nous expliquait une libération facile de l'isotope.

b) AVEC LE CHROMATE Cr^{51} .

Pour apprécier son mode de fixation, nous disposons d'un précieux recoupement avec les expériences faites par d'autres auteurs sur le marquage des hématies (GIBSON). Ils admettent que le radio-chromate marque les globules rouges parce que leur membrane est perméable à l'ion chromate. En revanche, le chromure de Cr^{51} ne traverse pas la membrane de l'hématie et ne permet pas une fixation durable. La preuve en est fournie par les effets de l'addition d'acide ascorbique qui se comporte comme un réducteur et qui arrête radicalement le marquage des hématies [32].

Pouvons-nous admettre des phénomènes analogues de perméabilité sélective pour les plaquettes? Elles possèdent, d'après les travaux récents, une membrane dont l'épaisseur mesurée par des procédés physiques, est estimée à 45 Å [33].

D'autre part, nous savons, d'après les travaux de ROBERTSON et DAMESHEK [14] que le chlorure de Cr^{51} marque les plaquettes, comme il marque les protéines du plasma. Nous n'avons pu vérifier ces travaux.

Ainsi, deux mécanismes de fixation sont possibles : un mécanisme de perméabilité sélective de membrane, un mécanisme d'incorporation aux protéines. Nous ne pouvons pas conclure formellement.

Dans une de nos expériences, l'acide ascorbique n'a pas influencé l'efficacité. Il semble donc que les plaquettes se marquent sur leurs protéines plutôt que par des phénomènes de membrane. Il reste à le prouver en étudiant la radio-activité des protéines plaquettaires. D'après nos expériences, la lyse plaquettaire met en solution 40 à 50 % des protéines plaquettaires [1]. Or, dans le surnageant contenant ces protéines, nous avons trouvé 50 % de la radio-activité initiale. Ce qui confirmerait l'incorporation du radio-chromate aux protéines plaquettaires.

c) AVEC L'OR RADIO-ACTIF COLLOÏDAL.

Nous manquons d'argumentation pour préciser le mode de fixation de l'or colloïdal radio-actif sur les plaquettes. La grande stabilité de sa fixation nous fait penser à un phénomène d'adsorption plutôt qu'à d'autres phénomènes.

Le granulé plaquettaire ne semble pas bénéficier du marquage ni par le radio-chromate, ni par l'or colloïdal.

III. — DEVENIR DES PLAQUETTES MARQUEES

1) CHEZ L'ANIMAL

Malgré les imperfections des techniques de marquage, il est remarquable de noter que les résultats obtenus chez l'animal normal sont comparables d'un isotope à l'autre.

a) Nous sommes en mesure de confirmer ce qu'écrivaient, en 1952, JULLIARD et MAUPIN : « Vingt minutes après l'injection, les plaquettes se retrouvent dans le foie, la rate et la moelle osseuse, et, à un moindre degré, dans les poumons. » Dans tous les cas, chez le lapin normal, c'est la rate qui a l'affinité la plus nette pour les plaquettes, tandis que le foie, par sa masse, est l'organe qui retient le plus grand nombre de ces éléments.

Au-delà de 24 heures, nous savons qu'un tiers environ du radio-chromate fixé sur les plaquettes est libéré. Ce « démarquage » nous interdit de tirer des conclusions formelles.

Avec l'or colloïdal radio-actif, nous pouvons, au contraire, affirmer la baisse rapide de l'activité du sang circulant et la diminution plus lente de l'activité du poumon. Le stockage plaquettaire par le foie se maintient à des valeurs constantes. Par contre, la rate et la moelle osseuse s'enrichissent progressivement. Coïncidence curieuse, malgré la plus grande labilité du marquage par le Cr^{51} , les résultats se recoupent assez bien avec ceux obtenus avec l' Au^{198} colloïdal comme traceur.

Il nous faut donc admettre que les plaquettes sanguines transfusées à l'animal sont retirées de la circulation générale pour être emmagasinées dans les organes du système réticulo-endothélial, avec une affinité majeure pour la rate.

A quels mécanismes doit-on rattacher cette disparition des plaquettes de la circulation générale?

— Une première réponse peut être donnée par un défaut de viabilité des éléments transfusés. Nous rejoignons là un aspect d'un problème plus complexe : celui des « greffes ». Chez un animal, même en l'absence d'incompatibilité importante, il ne fait aucun doute que la viabilité des plaquettes humaines est fortement compromise.

— Une deuxième réponse peut être recherchée dans une réaction de défense de l'organisme animal. On sait, comme l'a rappelé MAUPIN [4] que le lapin normal possède, à un faible taux ($1/5^e$ à $1/10^e$), des hétéro-agglutinines agissant sur les plaquettes sanguines humaines.

Nous pouvons admettre l'intervention d'un tel mécanisme : les agglutinines du lapin agissant d'emblée sur les plaquettes injectées, tandis que, par la suite (24^e heure), le système réticulo-endothélial fixe les éléments non viables. En ce cas, nous serions en droit d'attribuer à la rate, au foie et à la moelle osseuse, un rôle primordial dans l'élimination des plaquettes étrangères.

b) La rate et son rôle dans les thrombopénies posent aux immuno-hématologistes des questions qui sont encore loin d'être résolues. Notre travail chez le lapin avait pour but de vérifier l'hypothèse d'un arrêt progressif des plaquettes dans la rate.

Chez les sujets porteurs d'anticorps, on peut invoquer une action directe de ces anticorps sur les plaquettes circulantes, ou une action indirecte plus lointaine sur les mégacaryocytes de la moelle osseuse. On peut aussi faire appel à une opération en deux temps : la rate arrêtant de préférence les plaquettes sensibilisées par contact avec l'anticorps (HARRINGTON).

Nous ne reprendrons pas les nombreux arguments échangés à ce sujet. Ils ont été remarquablement exposés par DAUSSET. Mais, fait surprenant, l'injection des plaquettes marquées à des lapins immunisés est suivie d'un arrêt massif de ces éléments dans les poumons. Ce fait brutal eut pour nous la valeur d'un paradoxe, puisque nous nous attendions à un arrêt dans la rate. Or, ces lapins n'ont pratiquement pas fixé de plaquettes dans leur rate ou leur foie, contrairement aux lapins normaux. Nous savons par des travaux menés parallèlement aux nôtres (*) que le poumon exerce une action d'arrêt sélectif sur les leucocytes. Ainsi, les poumons du lapin immunisé contre les plaquettes humaines se comporteraient vis-à-vis d'elles comme les poumons d'un lapin normal vis-à-vis des leucocytes.

Cette fonction d'arrêt des poumons, organe mineur du système réticulo-endothélial à l'égard des plaquettes, est moins classique, mais n'est pas nouvelle. Déjà, en 1930, DELREZ et GOVAERTS, ROSKAM, POPIESCO-COMBESCO, avaient constaté que des amas de bactéries emplaquetées étaient retenus surtout dans les capillaires du poumon, dans le foie et la rate. Plus tard, HOWELL, STEFANINI, BIERMAN notaient la richesse du poumon en plaquettes dans d'autres circonstances expérimentales.

Nous considérons plus volontiers cet arrêt comme une *séquestration* que comme un arrêt définitif. Il était donc intéressant de savoir ce que devenaient les plaquettes chez des lapins immunisés après plusieurs heures et plusieurs jours. Le P^{32} ne nous permettait pas pareille tentative. Par contre, le Cr^{51} , et surtout l' Au^{198} , dans des expériences récentes, nous ont donné des résultats comparables : les poumons se vident de leurs plaquettes pendant que le foie, la rate, la moelle osseuse voient augmenter leur radio-activité, témoin de la fixation des plaquettes. Cette séquestration pulmonaire est-elle particulière au lapin immunisé? Nous devons honnêtement reconnaître que 3 des 18 lapins normaux ont présenté des radio-activités relativement fortes de leurs poumons. Nous formulons à ce sujet deux hypothèses :

- présence dans l'échantillon prélevé de thrombus plaquettaires (défaut d'hémogénéité de la suspension).
- ou bien intervention chez le lapin normal des hétéro-agglutinines anti-plaquettes humaines, dont nous avons

(*) Thèse de PERRAULT, « Destin des leucocytes transfusés après marquage par différents isotopes », Paris, 1957.

vu la présence constante à des taux faibles, mais dont les variations sont possibles d'un individu à l'autre.

Pour conclure, il aurait été intéressant de localiser avec précision le lieu où s'effectue dans le poumon cette séquestration. Il conviendra, par la suite, à l'aide d'autoradiographies, de résoudre ce délicat problème.

2) CHEZ L'HOMME

Le destin des plaquettes transfusées ne peut être calqué sur celui de l'animal, car ce dernier reçoit un matériel hétérologue vis-à-vis duquel s'exercent des réactions de défense.

Les expériences, chez l'homme, jointes à celles effectuées par d'autres auteurs (DAMESHEK, HARRINGTON), permettent d'affirmer qu'une certaine quantité de plaquettes demeurent en circulation. Nous avons eu la preuve, lors d'une transfusion à l'homme, d'une différence très nette entre l'activité du plasma riche en plaquettes et celle du plasma déplaqueté au cinquième jour de l'expérience. Cette différence de radio-activité ne peut être rapportée qu'aux seules plaquettes. Nous pouvons affirmer une survie au cinquième jour d'une partie des plaquettes transfusées à l'homme.

Là encore, leurs chances de survie sont fonction :

- de la viabilité des éléments transfusés ;
- de la compatibilité avec les facteurs humoraux du receveur.

En outre, nous observons chez l'homme une décroissance rapide de la radio-activité sanguine, exception faite de la dernière transfusion au malade splénectomisé où un maximum d'activité est enregistré à la troisième heure.

Nous confirmons l'arrêt dans le système réticulo-endothélial, principalement dans le foie et la rate, des plaquettes transfusées. La fixation par le foie est intense et durable, avec un maximum d'intensité à la deuxième heure, comme il en résulte de trois de nos expériences.

L'activité de la rate, mesurée deux fois par des méthodes directes après splénectomie, et deux fois par voie externe, est importante. Mais son maximum d'intensité est variable. Dans un premier cas, 11 mn après l'injection, la rate retient 23 % de la radio-activité. Dans un deuxième cas, la rate retient 7,7 % de l'activité injectée, 20 mn après la fin de la transfusion. Dans un troisième cas, le maximum d'intensité de la radio-acti-

tivité, mesurée par voie externe sur l'hypocondre gauche, a lieu à la deuxième heure. Dans un dernier cas enfin, ce maximum est observé à la vingt-quatrième heure. Il serait donc vain de tirer momentanément des conclusions définitives, d'autant que les quatre sujets étaient des malades, et que dans deux cas les rates étaient pathologiques. Il serait indiqué d'opérer des comparaisons, comme a commencé à le faire REISNER, entre les sujets normaux et ceux qui présentent un syndrome d'hypersplénisme et de noter les effets de la splénectomie, avec toute la prudence qu'impose chez l'homme l'emploi de radio-isotopes.

Dans la dernière expérience, nous avons observé que c'est à la troisième heure que le plus grand nombre de plaquettes se trouve en circulation dans le sang. Le malade étant splénectomisé, il nous faut admettre une séquestration des plaquettes par un organe autre que la rate, séquestration éminemment temporaire. Cet organe nous semble être le poumon. Ainsi se trouverait confirmé une nouvelle fois le rôle du poumon dans le destin des plaquettes transfusées.

Finalement, chez l'homme, le destin des plaquettes est double :

- utilisation, dans la mesure des besoins du receveur, cette utilisation étant plus importante si l'individu est thrombopénique;
- retrait de la circulation des plaquettes altérées ou usées par les organes constituant le système réticulo-endothélial, avec un maximum d'affinité pour la rate et un maximum d'efficacité pour le foie.

IV. — APPLICATIONS CLINIQUES

1. — Il est possible de suivre, par la seule voie externe transcutanée, la distribution dans l'organisme de plaquettes marquées par le Cr^{51} . Nous avons vu une application lors d'un essai de localisation de plaquettes au niveau d'un angiome. Une autre application est la détection d'une rate surnuméraire, chez un sujet présentant une rechute d'une affection hématologique chronique ayant antérieurement motivé une splénectomie.

Dans notre dernière expérience sur l'homme, le sujet présentait une rechute de la pancytopénie périphérique. La radioactivité de l'hypocondre gauche n'était pas en faveur d'une rate surnuméraire.

Des expériences similaires avec les plaquettes marquées par l'or colloïdal radio-actif Au^{198} sont probablement réalisables.

2. — Bien qu'ils ne soient pas strictement applicables à l'homme, les résultats obtenus chez le lapin immunisé doivent nous faire suspecter une localisation pulmonaire des plaquettes transfusées chez un sujet immunisé, avec possibilité d'embolie pulmonaire. Mais ce risque théorique n'est pas confirmé par l'expérience des transfusions. L'expérience des anticorps anti-plaquettaires, qu'il s'agisse d'auto ou d'iso-anticorps, entraîne seulement l'échec hématologique et clinique de la transfusion (sujets « réfractaires » définis par MAUPIN [4]).

* * *

Le devenir des plaquettes transfusées n'est donc pas encore parfaitement élucidé. Les nombreux travaux que soulève ce problème en montrent la grande actualité. Nous apportons quelques conclusions intéressantes concernant le destin des plaquettes transfusées chez l'animal. Chez l'homme, nos résultats sont encore fragmentaires. D'autres expériences méritent d'être tentées pour les confirmer.

Conclusions

1. — Le destin des plaquettes transfusées, chez l'homme comme chez l'animal, pose un problème qui n'est encore que partiellement résolu. Le marquage par un isotope radio-actif des plaquettes sanguines de l'homme, séparées par une technique originale, nous fournit un moyen d'étude valable de ce problème.

II. — Du point de vue technique, nous avons utilisé successivement :

- 1° Le radio-phosphore (P^{32}), sous forme de phosphate disodique;
- 2° Le radio-chrome (Cr^{51}), sous forme de chromate de sodium;
- 3° Enfin, plus récemment, l'or colloïdal (Au^{198}).

Tous ces radio-éléments étaient fixés sur les plaquettes « in vitro », après une incubation de durée variable; l'efficacité du marquage est de l'ordre de 10 %.

Médiocre dans le cas du P^{32} , la stabilité de ce marquage est meilleure avec le Cr^{51} et excellente avec l' Au^{198} colloïdal.

Des contrôles chimiques nous ont indiqué que, dans nos conditions d'expérience, le P^{32} ne pénètre pas dans le compartiment organique des plaquettes.

Dans ces conditions, seuls le Cr^{51} et l' Au^{198} sont utilisables pour des expériences de longue durée.

III. — Chez l'homme, six transfusions de plaquettes marquées ont été réalisées : si les premières ne nous ont pas apporté beaucoup d'enseignements, deux transfusions associées à une intervention chirurgicale sur la rate ont permis de mesurer directement l'activité de cet organe.

Dans les trois dernières expériences cliniques, et la dernière surtout, l'exploration des organes a été faite par voie externe

au compteur à scintillations et nous avons pu suivre dans le temps l'évolution de leur activité, comparativement au prélèvement d'échantillons de sang. Le maximum de l'activité du sang, liée manifestement aux plaquettes marquées, apparaît à la troisième heure et décroît rapidement, tandis que le foie présente, dès 20 mn après la transfusion, une activité importante qui décroît lentement après un maximum à la deuxième heure.

IV. — De très nombreuses expériences ont été conduites chez l'animal, principalement chez le lapin, toujours avec des plaquettes d'origine humaine.

a) Si le lapin n'a pas été préparé, les plaquettes injectées se répartissent entre les différents organes participant du système réticulo-endothélial. Vingt minutes après l'injection, la rate est l'organe qui présente l'affinité la plus sélective, tandis que le foie fixe un pourcentage considérable de la radio-activité injectée. La fixation par la moelle osseuse est importante et constante. La localisation de l'activité dans le poumon est irrégulière.

Avec le temps, et jusqu'à 24 heures après l'injection, les valeurs du foie, de la rate et de la moelle osseuse se modifient peu, tandis que l'activité moyenne du poumon décroît régulièrement.

b) Chez le lapin immunisé par injections répétées de plaquettes humaines, jusqu'à obtention d'un taux d'agglutination élevé, les phénomènes observés sont très différents :

Si l'animal est sacrifié après 20 minutes, le poumon présente une activité considérable ; l'activité du foie, de la rate et de la moelle osseuse est négligeable.

Après 24 heures, l'activité du poumon décroît nettement au bénéfice des autres organes.

c) Ces expériences sont en faveur de la répartition rapide des plaquettes dans le système réticulo-endothélial chez le lapin normal non immunisé. Chez le lapin immunisé, nous mettons en évidence la séquestration des plaquettes dans le poumon : cette séquestration est temporaire, puisque les autres organes s'enrichissent en plaquettes marquées après 24 heures.

d) Nous avons contrôlé parallèlement chez d'autres lapins le devenir des leucocytes transfusés ainsi que de solutions inorganiques de radiophosphate, de radiochromate et d'or colloïdal radio-actif.

e) L'exploration du devenir des plaquettes humaines marquées après transfusion a été étendue à d'autres animaux (cobaye, chien, souris). Les résultats partiels, chez les animaux normaux, sont du même ordre que chez le lapin normal.

V. — *Conclusions générales* : Nous avons mis au point des techniques nouvelles de marquage des plaquettes sanguines *in vitro* : l'or colloïdal radio-actif nous paraît spécialement intéressant à cet égard.

En conclusion de nos expériences sur l'homme, nous avons observé dans deux cas une forte activité au niveau de la rate extirpée chirurgicalement, 20 mn après la transfusion de plaquettes marquées (sujets présentant un syndrome d'« hyper-splénisme »). Chez un sujet splénectomisé antérieurement, une séquestration temporaire des plaquettes transfusées a été mise en évidence.

D'autre part, nous sommes en mesure d'affirmer que les plaquettes humaines marquées, injectées au lapin par voie veineuse, se répartissent entre les différents organes du système réticulo-endothélial, avec une affinité particulière pour le foie, la rate et la moelle osseuse.

Chez le lapin qui présente des anticorps antiplaquettaires, la localisation est très différente, puisque nous observons dans le poumon une séquestration temporaire.

Nous pensons que ces données présentent un intérêt pour l'explication de certains syndromes immuno-hématologiques et l'application clinique des transfusions plaquettaires.

Vu, le Doyen :
BINET

Vu, le Président de Thèse :
FAUVERT

Vu et Permis d'imprimer,
le Recteur de l'Académie de Paris :
SARRAILH

Bibliographie

1. MAUPIN (B.). — Acquisitions récentes sur l'histochimie et la biochimie des plaquettes sanguines de l'homme. (*Revue d'Hématologie*, 1953, 8, n° 3, pp. 302-315.)
2. GUDE (W.D.), UPTON (A.), ODELL (T.T. Jr). — Blood platelets of human and rat. A cytochemical study. (*Laboratory Investigation*, juillet-août 1956, vol. 5, n° 4, pp. 348-358.)
3. MAUPIN (B.). — Recherches histochimiques et biochimiques sur les plaquettes sanguines de l'homme. (*Thèse de doctorat ès-sciences*, Paris, 1953.)
4. MAUPIN (B.). — Les plaquettes sanguines de l'homme. (Masson, éd., Paris, 1954, 1 vol.)
5. MAUPIN (B.) et VIGNE (J.). — La valeur des transfusions de plaquettes dans les purpuras thrombopéniques. (*Journées Thérapeutiques de Paris*, 1956.)
6. MAUPIN (B.). — Durée de vie des plaquettes. (*Revue Française d'Etudes Cliniques et Biologiques*, janvier 1957, vol. 11, n° 1, pp. 72-80.)
7. LEEKSMA (C.H.W.) et COHEN (J.A.). — Determination of the life span of human blood platelets using labeled di-iso-propyl-fluoro-phosphate. (*J. Clin. Investig.*, 1956, 35, p. 964.)
8. ERF (L.A.), TUTTLE (L.W.) et LAWRENCE (J.H.). — Clinical studies with the aid of radiophosphorus. (*Ann. Int. Med.*, 1941, 15, 487.)
- 9 a. JULLIARD (J.), MAUPIN (B.), CHARY (R.). — Transfusion au lapin de leucocytes et de plaquettes de sang humain après marquage par le radio-phosphore. (*C. R. de la Société de Biologie*, 1952, 142, p. 211.)
- 9 b. JULLIARD (J.), MAUPIN (B.), LOVERDO (A.), COLVEZ (P.), BERNARD (J.), LECOMTE (M.). — Premiers essais de transfusion à l'homme de leucocytes et de plaquettes marqués au radio-phosphore. (*Presse Médicale*, 1952, 60, pp. 518-520.)
- 10 a. MUELLER (J.F.). — Pathologic physiology of mammalian blood platelets utilizing P³²-tagged rabbit platelets. (*Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 1953, 83, p. 557.)

- 10 b. MUELLER (J.F.). — Some studies concerning the pathologic physiology of mammalian blood platelets utilizing P^{32} -tagged rabbit platelets. (*J. Lab. Clin. Med.*, 1952, 40, p. 925.)
11. ODELL (T.T. Jr), GAMBLE (F.N.), FURTH (J.). — Life span of naturally labeled platelets of rats. (*Fed. Proc.*, 1953, 12, p. 398.)
- 12 a. ODELL (T.T. Jr), TAUSCHE (F.G.), GUDE (W.D.). — Uptake of radioactive sulfate by elements of the blood and the bone marrow of rats. (*Am. J. Physiol.*, 1955, 180, pp. 491-494.)
- 12 b. ODELL (T.T. Jr) et UPTON (A.C.). — Distribution of Calcium 45 in platelets and bone marrow of rats. (*Acta Haemat.*, 1955, 14, pp. 291-293.)
13. MORGAN (M.C.), KEATING (R.P.), REISNER (E.H. Jr). — Labeling of rabbit platelets with iodine¹³¹. (*Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 1954, 85, p. 420.)
14. ROBERTSON (J.S.), MILNE (W.L.), COHN (S.H.). — Labeling and tracing rat blood platelets with chromium⁵¹. (*II^e Congrès International Radio-Isotope*, Cambridge G.B., juillet 1954, Actes, vol. 1, pp. 205-209.)
15. MORGAN (M.C.), KEATING (R.P.), REISNER (E.H. Jr). — Survival of radiochrome labeled platelets in rabbits. (*J. Lab. Clin. Med.*, 1955, 46, pp. 521-529.)
16. DESAI (R.G.), SMALL (W.), MEDNICOFF (I.) et DAMESHEK (W.). — Studies on the survival and metabolic activity of platelets in humans utilizing radioactive phosphorus. (*Com. V^e Congrès International Europ. d'Hématologie*, Fribourg en Brisgau, septembre 1955, Résumés p. 15.)
17. DESAI (R.G.), SMALL (W.) et MEDNICOFF (I.). — Studies on the survival and metabolic activity of platelets in humans utilizing radioactive phosphorus. (*J. Clin. Invest.*, 1955, 34, p. 930.)
18. CAMPBELL (E.W.) et SMALL (W.J.). — Radioactive phosphorus uptake by human platelets. (*Fed. Proc.*, 1956, 15, p. 30.)
- 19 a. ADELSON (E.) et RHEINGOLD (J.J.). — Studies on platelets survival by *in vivo* tagging with P^{32} . (*VI^e Congrès International d'Hématologie*, Boston, 1956, résumés p. 226.)
- 19 b. ADELSON (E.), RHEINGOLD (J.J.) et CROSBY (W.H.). — Studies on platelets survival by tagging *in vivo* with P^{32} . (*J. Lab. Clin. Med.*, 1957, 50, pp. 570-576.)
20. REISNER (E.H. Jr), KEATING (R.P.), FRIESEN (C.) et LOEFFLER (E.). — Survival of sodium chromate⁵¹ labeled platelets in animals and man. (*VI^e Congrès International d'Hématologie*, Boston, 1956, résumés p. 224.)

21. AAS (K.) et GARDNER (F.H.). — Life span of normal human platelets tagged with chromium⁵¹. (*VI^e Congrès International de Transfusion Sanguine*, Boston, 1956, Actes pp. 364-368.)
- 22 a. ODELL (T.T. Jr), TAUSCHE (F.G.) et FURTH (J.). — Life span of *in vivo* labeled transfused platelets. (*Fed. Proc.*, 1954, 13, p. 440.)
- 22 b. ODELL (T.T. Jr), TAUSCHE (F.G.) et FURTH (J.). — Platelets life span as measured by transfusion of isotopically labeled platelets into rats. (*Acta Haemat.*, 1955, 13, pp. 45-52.)
- 22 c. ODELL (T.T. Jr). — Production, life span and fate of blood platelets : studies with radio-isotope labeling technics. (*VI^e Congrès International d'Hématologie*, Boston, 1956, résumés p. 227.)
23. MAUPIN (B.). — Le traitement des hémorragies par les transfusions de plaquettes. (*La Vie Médicale*, n° spéc. Noël 1955, pp. 105-108.)
- 24 a. MAUPIN (B.), LOVERDO (A.), THEILLEUX (R.). — Marquage par le radio-phosphore des plaquettes sanguines humaines. Transfusion à l'homme et à l'animal. (*Actes du V^e Congrès International de Transfusion Sanguine*, Paris, 1954, pp. 845-850.)
- 24 b. MAUPIN (B.), LOVERDO (A.), THEILLEUX (R.), BAUDOT (Cl.) et LEMOINE (E.). — Studies on platelets labelled *in vitro* by radiochromate. (*VI^e Congrès International de Transfusion Sanguine*, Actes pp. 369-375.)
- 24 c. MAUPIN (B.). — Transfusion des plaquettes sanguines chez l'homme et chez l'animal. Etude de leur destin et valeur thérapeutique. (*La Trasfusione del Sangue*, 1957, 1, pp. 189-206.)
25. SCHNEIDER (W.C.). — Phosphorus compounds in animal tissues. (*J. Biol. Chem.*, 1945, 161, pp. 293-303.)
26. MACHEBŒUF (M.) et DELSAL (J.). — Dosage du phosphore par une méthode colorimétrique. (*Bulletin de la Société de Chimie Biologique*, 1943, 25, pp. 116-120.)
27. FERRINI (O.). — Alcuni aspetti della cronofisiologia piastrinica studiati per mezzo della marcatura con radio isotopi. (*La Trasfusione del Sangue*, janvier-mars 1957, vol. 1, n° 3, pp. 271-284.)
28. MOUREAU (P.), ANDRÉ (A.). — Présence des antigènes A et B dans les plaquettes. (*Vox Sanguinis*, 1954, 4, pp. 46-51, V^e Congrès International de Transfusion Sanguine, Paris, 1954.)
29. HERVIER (P.). — Présence des agglutinogènes A, B et Rh dans les leucocytes et les plaquettes de l'homme. (*Thèse de Médecine*, Paris, 1956.)
30. STEFANINI (M.), DAMESHEK (W.). — Collection, preservation and transfusion of platelets. (*New England J. Medicine*, 1953, 248, pp. 797-802.)

31. BIERMAN (H.R.). — The hematologic role of the lung in man (*American J. Surgery*, 1955, 89, pp. 130-140.)
 32. GIBSON (J.G.) et SCHEITLIN (W.A.). — A method employing Cr^{51} for assaying the viability of human erythrocytes returning to the circulation after refrigeration storage. (*J. Lab. Clin. Med.*, 1955, 46, pp. 679-688.)
 33. RUHENSTROTH-BAUER (G.) et ZEININGER (K.). — Die Bedeutung der Thrombozyten-membran für deren Funktion. (*Naturwissenschaften*, 1956, 43, p. 427.)
 34. BURKE (J.D.). — Blood volume in mammals. (*Physiol. Zool.*, 1954, 27, pp. 1-21.)
-

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	15
— <i>Les plaquettes sanguines et leur rôle</i>	15
— <i>Vie et mort des plaquettes</i>	17
— <i>Problème du devenir des plaquettes transfusées</i>	19
CHAPITRE I. — Techniques de marquage des plaquettes sanguines par les isotopes radio-actifs	23
— <i>Revue des méthodes employées</i>	23
— <i>Techniques utilisées dans notre travail</i>	26
— <i>Conduite des expériences</i>	31
— <i>Contrôles de marquage</i>	36
CHAPITRE II. — Résultats expérimentaux	55
— <i>Chez l'homme</i>	55
— <i>Chez l'animal</i>	66
CHAPITRE III. — Discussion et applications	83
— <i>Le choix de l'isotope</i>	83
— <i>Mode de fixation du radio-isotope sur les plaquettes</i>	84
— <i>Devenir des plaquettes marquées</i>	85
— <i>Applications cliniques</i>	89
CONCLUSIONS	91
BIBLIOGRAPHIE	95

